

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВДНЗУ «УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ»

На правах рукопису

ПРИЙМЕНКО НАТАЛІЯ ОЛЕГІВНА

УДК: 616.921.5:575.191]-08-084

**ОПТИМІЗАЦІЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ  
ГРИПІ У ХВОРИХ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2,  
LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4**

14.01.13 – інфекційні хвороби

дисертація на здобуття наукового ступеню  
кандидата медичних наук

Науковий керівник

ДУБИНСЬКА ГАЛИНА МИХАЙЛІВНА

доктор медичних наук, професор

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП .....	6
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	13
1.1 Сучасні уявлення про імунопатогенез, лікування і профілактику грипу та його ускладнень.....	13
1.2 Визначення ролі Toll-подібних рецепторів у патогенезі інфекційних захворювань.....	31
1.3 Обґрунтування обраного напрямку дослідження.....	45
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	49
2.1 Загальна характеристика обстежених хворих та здорових людей.....	49
2.2 Методи дослідження використані в роботі.....	53
2.2.1 Загальноклінічні, біохімічні, бактеріологічні, серологічні та інструментальні методи обстеження .....	53
2.2.2 Генетичні методи обстеження.....	54
2.3 Методи статистичної обробки даних.....	57
РОЗДІЛ 3 ПОШИРЕНІСТЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4 СЕРЕД ХВОРИХ НА ГРИП ТА ГРИП-АСОЦІЙОВАНУ ПНЕВМОНІЮ.....	60
РОЗДІЛ 4 РЕЗУЛЬТАТИ ПОГЛИБЛЕНОГО КЛІНІКО-АНАМНЕСТИЧНОГО ОБСТЕЖЕННЯ ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4 .....	71
РОЗДІЛ 5 КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИПУ ТА ГРИП-АСОЦІЙОВАНИХ ПНЕВМОНІЙ В ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4.....	84

5.1	Клінічна характеристика хворих із неускладненим перебігом грипу з поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.....	84
5.2	Клініко-лабораторна характеристика грип-асоційованих пневмоній в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.....	105
РОЗДІЛ 6	ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОПРОФІЛАКТИКИ ГРИПУ В ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4.....	142
	ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	163
	ВИСНОВКИ.....	176
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	179
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	180

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АлАТ – аланінамінотрансфераза  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза  
ВІЛ – вірус імунодефіциту людини  
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я  
ГКГ – головний комплекс гістосумісності  
ГРВІ – гостра респіраторна вірусна інфекція  
ГРДС – гострий респіраторний дистрес-синдром  
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота  
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я  
НДШ – нижні дихальні шляхи  
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція  
ПОКІЛ – Полтавська обласна клінічна інфекційна лікарня  
ПОН – поліорганна недостатність  
ПРР – патерн розпізнавальні рецептори  
ПЯН – паличко-ядерні нейтрофіли  
длРНК – дволанцюгова РНК  
олРНК – одноланцюгова РНК  
РГГА – реакція гальмування гемаглютинації  
РЦР – рання цитокінова реакція  
ССЗВ – синдром системної запальної відповіді  
ШВЛ – штучна вентиляція легень  
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів  
Arg/Gln – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 2  
Arg/Arg – гомозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 2  
Asp/Gly – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 4  
CD4+ – Т-хелпери/індуктори  
CD8+ – Т-цитотоксичні лімфоцити/супресори  
CMV – цитомегаловірус  
Phe/Phe – гомозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 3

IgA – імуноглобуліни класу А

IgG – імуноглобуліни класу G

IgM – імуноглобуліни класу M

IL – інтерлейкін

IFN – інтерферон

Leu/Phe – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 3

LPS – ліпополісахарид

MyD88 – протеїн 88 первинної відповіді мієлоїдної диференціації

NF-κB – нуклеарний фактор

NK – натуральні кілерні клітини

TLR – Toll-подібний рецептор

TNF – фактор некрозу пухлин

PAMP – патоген-асоційовані молекулярні структури

SNP – поліморфізм одиничного нуклеотиду

SpO<sub>2</sub> – рівень сатурації кисню (насичення киснем артеріальної крові)

299Gly – мутантний алель Toll-подібного рецептора 4

412Phe – мутантний алель Toll-подібного рецептора 3

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Грип і грипоподібні захворювання залишаються однією з найактуальніших медичних та соціальних проблем в силу високої питомої ваги в інфекційній патології (80-90 %), а також ризику розвитку тяжких ускладнень та загострень хронічних хвороб [13]. Якщо враховувати здатність вірусу грипу спричиняти епідемії та пандемії в масштабах земної кулі, можна стверджувати, що він є проблемою світового значення. У період епідемії хворіє від 15 до 20 % населення. При пандеміях, коли виникають зміни властивостей вірусу, хворіє кожна друга людина [53].

Висока захворюваність на грип і гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) обумовлена об'єктивними факторами: повітряно-крапельним шляхом передавання, високою вірулентністю збудників, зниженням імунологічної резистентності та глибоким пригніченням функціональної активності різних ланок імунної системи, які ведуть до загострення багатьох хронічних хвороб, а також до виникнення вторинних бактеріальних ускладнень [18, 51]. Антигенна мінливість вірусу грипу, особливо типу А, є причиною швидкого розповсюдження інфекції та виникнення тяжкого перебігу хвороби з високою смертністю [15]. Найбільша кількість летальних випадків при грипі пов'язана не безпосередньо з цим захворюванням, а з ускладненнями, провідне місце (80-90 %) серед яких займають пневмонії [9]. На сьогодні доведено, що тяжкий та ускладнений перебіг грипу розвивається переважно в пацієнтів із груп ризику, до яких належать: вагітні, хворі на цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання легень та серця, а також особи старших вікових груп [155, 194, 196, 216, 221]. Проте, за даними ВООЗ, у 30 % пацієнтів, які раніше вважалися здоровими, також можливий тяжкий і ускладнений перебіг грипу, що обумовлює необхідність подальшого вивчення факторів, що впливають на перебіг і наслідки хвороби [266].

Відомо, що індивідуальна сприйнятливність організму до інфекцій визначається патогенністю мікроорганізму, факторами навколишнього

середовища та станом імунної системи. Саме вроджена імунна система відіграє вирішальну роль у первинному захисті організму від патогенів, розпізнавання яких покладено на сімейство рецепторів Toll-like (TLR). Збудження TLR під час інфікування респіраторного тракту призводить до активації генів, які беруть участь у регуляції запального процесу, вроджених механізмів захисту від інфекційних агентів, набутого імунітету [91].

Особливий інтерес з точки зору вивчення патогенезу грипу та його ускладнень представляють TLR-2 і TLR-4, що розпізнають вірусні структурні білки та ліганди грампозитивних і грамотригативних бактерій, а також TLR-3, який взаємодіє з длРНК – продуктом реплікації і транскрипції РНК-, ДНК-геномних вірусів [36, 110, 183, 268].

Дослідження останніх років доводять, що дисфункція TLR, пов'язана з поліморфізмом їхніх генів, призводить до порушення розпізнавання патогенів і дисбалансу функціонування системи вродженого імунітету й обумовлює схильність до цілого ряду захворювань [87]. Основними поліморфізмами, які тісно пов'язані з інфекційною патологією є Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Доведено, що варіант поліморфізму Asp299Gly гену TLR-4 тісно пов'язаний з розвитком бронхіальної астми, гематогенного остеомієліту та системного кандидозу, бактеріальних інфекцій, що передаються статевим шляхом, респіраторно-синцитіальної інфекції в дітей молодшого віку та новонароджених, сепсису, спричиненого грам-негативними бактеріями [70, 76, 117, 161, 238, 243]. Поліморфізм Arg753Gln гену TLR-2 асоціюють із підвищеною сприйнятливістю до туберкульозу, стафілококових інфекцій [99, 234]. Варіант поліморфізму Leu412Phe гену TLR-3 пов'язують з розвитком підгострого склерозуючого паненцефаліту при кору, міокардиту та дилатаційної кардіоміопатії при ентеровірусній інфекції [104, 220]. Проте, роль поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 у патогенезі грипу та його ускладнень залишається не вивченою.

Зважаючи на дані наукової літератури, які свідчать, що сприйнятливість до інфекційних агентів є генетично детермінованою, пошук маркерів, які

визначають ризик розвитку тяжкого та ускладненого перебігу грипу серед алелей генів TLR, набуває особливої актуальності. Вивчення ролі поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при грипі дозволить удосконалити діагностику, прогнозувати перебіг та індивідуалізувати лікувально-профілактичну тактику з урахуванням особливостей імунного реагування.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи НДІ Генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ “Українська медична стоматологічна академія”: “Визначення ролі поліморфізму Toll-подібних рецепторів у механізмах розвитку імуноопосередкованих захворювань України” (номер державної реєстрації 0109U001629) і була фрагментом наукової роботи кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією: “Визначення ролі поліморфізму Toll-подібних рецепторів у патогенезі інфекційних захворювань” (номер державної реєстрації 0113U005006).

**Мета дослідження** – удосконалення надання медичної допомоги хворим на грип на основі вивчення особливостей клінічного перебігу та оцінки ефективності лікувально-профілактичних заходів залежно від поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

**Завдання дослідження:**

1 Дослідити поширеність поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 у хворих із неускладненим перебігом грипу та грип-асоційованими пневмоніями.

2 Провести поглиблене клініко-анамнестичне обстеження та встановити зв'язок із запальними захворюваннями верхніх і нижніх дихальних шляхів в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.



3 Проаналізувати клінічний перебіг грипу та грип-асоційованих пневмоній у хворих із нормальним і мутантним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4.

4 З'ясувати ефективність специфічної імунопрофілактики грипу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.

*Об'єкт дослідження:* грип та грип-асоційовані пневмонії в пацієнтів із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4, вакцинація проти грипу.

*Предмет дослідження:* частота розподілу алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4, перебіг грипу та грип-асоційованих пневмоній, ефективність протигрипозної вакцинації в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.

*Методи дослідження:* анамнестичні, загальноклінічні, біохімічні (рівень загального білірубіну, креатиніну, сечовини, залишкового азоту, активність АлАТ і АсАТ), бактеріологічні (дослідження харкотиння), серологічні (визначення специфічних антитіл у парних сироватках крові в реакції гальмування гемаглютинації (РГГА), генетичні (дослідження розподілу алелей TLR-2 (Arg753Gln), TLR-3 (Leu412Phe), TLR-4 (Asp299Gly) та визначення РНК вірусу грипу в назофарингеальних мазках), інструментальні (рентгенографія органів грудної клітини, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, пульсоксиметрія), статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше з'ясовано, що серед хворих на грип і грип-асоційовану пневмонію достовірно частіше виявляється мутантний алель 299Gly TLR-4 та комбінації поліморфізмів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Частота мутантної алелі 412Phe TLR-3 вище серед хворих на грип-асоційовану пневмонію.

Вперше доведено, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів, частих (більше 4 разів на рік) ГРВІ, при яких ризик

розвитку ураження НДШ достовірно вищий, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей.

Вперше встановлено, що грип у пацієнтів із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при типовій клінічній картині відрізняється більшою тривалістю основних клінічних симптомів, переважанням середньотяжкого та тяжкого перебігу, високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії.

Вперше доведено, що в хворих із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 при відсутності загальновизнаних факторів ризику розвитку ускладнень первинна вірусна пневмонія розвивається винятково в носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 і характеризується: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного, багаточасткового ураження легень, тяжким перебігом із тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому та поліорганної недостатності, більшою летальністю. Установлено, що вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом із двобічним ураженням легень.

Уточнені дані щодо ефективності вакцинації проти грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 і доведено, що за імунними та клініко-епідеміологічними показниками її ефективність визначається на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4. Специфічна імунопрофілактика грипу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 дозволяє запобігти розвитку пневмонії та зменшити частоту приєднання бронхіту.

**Практичне значення роботи.** Дослідження поліморфізму генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 дозволяє сформувати групу ризику тяжкого та ускладненого перебігу грипу.

Пацієнтам із поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 та комбінаціями з Arg753Gln TLR-2 запропоновано індивідуалізувати лікувально-діагностичну тактику при грипі, яка полягає в призначенні противірусних препаратів із першого дня хвороби, обов'язковій госпіталізації для динамічного спостереження, проведенні рентгенографії органів грудної клітини на першому тижні у зв'язку з високим ризиком розвитку вірусної пневмонії.

У практичній діяльності сімейним лікарям і лікарям-інфекціоністам слід враховувати, що особи з поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 складають групу ризику тяжкого та ускладненого перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії (інформаційний лист № 179-2014 «Прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії»), для запобігання яких необхідно проводити обов'язкову специфічну імунопрофілактику грипу.

**Впровадження результатів дослідження в практику.** Результати досліджень впроваджені в практику інфекційних стаціонарів Полтавської, Сумської, Харківської областей. Теоретичні положення й практичні рекомендації використовуються в навчальному процесі на кафедрах інфекційних хвороб з епідеміологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Сумського державного університету, Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням. Внесок автора полягає в проведенні інформаційно-патентного пошуку, аналізі та узагальненні даних наукової літератури, розробці основних завдань дослідження, самостійному веденні та обстеженні хворих, проведенні клінічних і організації виконання лабораторних досліджень. Дисертантом особисто систематизовані отримані дані, узагальнені результати дослідження, написані всі розділи роботи, сформульовані висновки та практичні рекомендації, підготовлені до друку наукові праці та виступи, упроваджені результати наукових розробок у роботу медичних закладів.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи обговорювалися та викладені на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Епідеміологічні та клінічні аспекти профілактики, діагностики та лікування розповсюджених інфекційних хвороб сучасності» (Харків, 2012 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (Суми, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука 2013» (Полтава, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вірусні хвороби. ВІЛ-інфекція/СНІД» (Алушта, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2014 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Фармакотерапія інфекційних захворювань» (Київ, 2014 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 11 праць, із них 5 – статті в наукових спеціалізованих виданнях, що входять до переліку, затвердженого МОН України, 1 стаття в закордонному виданні, що обліковується наукометричною базою «SCOPUS», 4 тез науково-практичних конференцій, інформаційний лист.

**Обсяг і структура дисертації.** Робота викладена на 209 сторінках і включає вступ, огляд літератури, загальну характеристику обстежених осіб та методів дослідження, 4 розділи власних досліджень, обговорення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації і список використаної літератури, який містить 270 джерел (з них 89 – кирилицею та 181 – латиницею). Робота ілюстрована 31 таблицею та 18 рисунками.

## РОЗДІЛ І

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Сучасні уявлення про імунопатогенез, лікування і профілактику грипу та його ускладнень

Незважаючи на значну кількість досліджень останніх років, спрямованих на вивчення грипу, ця інфекція залишається недостатньо контрольованою та керованою і займає перше місце за розповсюдженістю і летальністю серед вірусних уражень людини [31]. За підрахунками ВООЗ, щороку на грип у світі хворіє до 500 млн. чоловік, 2 мільйони з яких помирає. В Україні кількість хворих щорічно сягає 10-14 мільйонів, що складає 95 % від усіх зареєстрованих випадків інфекційних захворювань [33]. Під час пандемій грипу, які в людській популяції пов'язані з шифтовими змінами збудника, захворюваність населення зростає до 50-70 %, а летальність до 10 % [23, 31, 33].

Відомо, що найбільша кількість летальних випадків при грипі пов'язана не безпосередньо з цим захворюванням, а з ускладненнями, які реєструються не лише під час пандемій, а і в періоди сезонної активності вірусу в міжпандемічний період. У клінічному різноманітті ускладнень провідне місце (80-90 %) займають пневмонії, частота їх виявлення складає до 10 % серед всіх захворілих і до 50 % серед госпіталізованих [9, 89, 221, 222]. У залежності від етіологічного чинника при грипі прийнято виділяти: первинну (вірусну) вторинну (вірусно-бактеріальну) та третинну (бактеріальну) пневмонію.

Під первинною пневмонією розуміють пряме залучення легень у патологічний процес, спричинений вірусом грипу, частіше пандемічних штамів. Вона розвивається на 2-3 день від початку хвороби, як правило, має тяжкий перебіг, про що свідчать ознаки гострої дихальної недостатності [74, 173, 214, 222, 264].

Згідно висновків наукових досліджень та клінічних спостережень, проведених в Україні та за її межами, саме остання пандемія 2009-2010 років, спричинена вірусом грипу А/Н1N1, на відміну від епідемій та пандемій

попередніх десятиліть, характеризувалась розвитком важкого перебігу вірусної пневмонії, ускладненої гострим респіраторним дистрес-синдромом (ГРДС), які обумовлювали необхідність лікування пацієнтів в умовах відділення реанімації та інтенсивної терапії і були причиною більшості летальних випадків [8, 21, 32, 48, 61, 62, 63]. За даними літератури кількість хворих, що потребували інтенсивної терапії, в різних країнах склала 10-25 % від усіх госпіталізованих із приводу грипу, а летальність від пневмонії, ускладненої ГРДС і поліорганною недостатністю (ПОН), становила 17-54 % [125, 127, 141, 163, 205].

В Україні за даними офіційної статистики з 29.10.2009 по 28.03.2010 р. загальна кількість хворих на грип і гострі респіраторні захворювання склала 6,3 млн., а кількість померлих сягнула 1 127 осіб. Із числа захворілих 363 900 чоловік потребували госпіталізації, у тому числі, 126 026 (34,6 % від кількості госпіталізованих) – із приводу пневмонії [55]. В інших країнах частота грип-асоційованої пневмонії серед госпіталізованих виявилася дещо вищою і склала 40 % у США та 49 % в Австралії [202].

При вторинній, вірусно-бактеріальній пневмонії, інтервал між першими респіраторними симптомами та ознаками залучення в процес легень складає більше 4-7 діб. Поняття «вірусно-бактеріальна» до певної міри умовне та має на увазі зростання значення бактеріального компонента в міру збільшення термінів розвитку пневмонії від моменту перших катаральних симптомів грипу. Як наслідок, вірусно-бактеріальна пневмонія характеризується поєднанням ознак як первинної, так і вторинної пневмонії. [66, 112]. Цей причинний зв'язок виникає внаслідок пригнічення вірусом факторів неспецифічного та специфічного антибактеріального захисту, що призводить до активації ендогенної мікрофлори верхніх дихальних шляхів. Бактеріальними збудниками змішаної пневмонії є переважно грампозитивні бактерії. Серед них домінують *Streptococcus pneumoniae* (48 %) та *Staphylococcus aureus* (19 %), які виявляються в харкотинні одночасно з вірусами грипу [74, 126, 151, 176].

Третинна бактеріальна пневмонія розвивається через 10-14 днів від початку захворювання переважно в пацієнтів із хронічними захворюваннями

дихальних шляхів, ослаблених та осіб, які часто хворіють, а також при тривалому та безуспішному лікуванні в стаціонарі. Вважається, що причиною цього виду враження легень може бути активація агресивної грамнегативної бактеріальної аутомікрофлори [67, 74].

Вивченню ролі бактеріальної суперінфекції при грипі присвячено ряд робіт закордонних учених. Так, на підставі дослідження тканин легень померлих під час пандемії грипу 1918-1919 років доведено, що в більшості (96 %) мали місце гістологічні ознаки тяжкої бактеріальної пневмонії, спричиненої *Streptococcus pneumoniae* [116, 195].

З інших наукових джерел відомо, що пандемії «азіатського грипу» 1957-1958 років та «гонконгського» 1968-1969 р. характеризувалися домінуванням збудника вторинної пневмонії – *Staphylococcus aureus*, який в 50 % виявився метицилінрезистентним [109, 151]. На відміну від попередніх, пандемія 2009-2010 рр. відрізнялася значно нижчою частотою (29 %) бактеріальних пневмоній серед пацієнтів із летальним наслідком захворювання [119].

На сьогодні доведено, що тяжкий та ускладнений перебіг грипу розвивається переважно в пацієнтів із груп ризику, до яких належать: вагітні, хворі на цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання легень та серця, а також особи старших вікових груп [155, 194, 196, 216, 221]. Слід зазначити, що пандемії минулого сторіччя характеризувалися розвитком ускладнень переважно в пацієнтів старших 60 років [203]. Особливістю останньої пандемії грипу А/Н1N1 було зміщення фактору ризику в бік осіб молодого та середнього віку. Так, аналіз 642 випадків тяжкого та ускладненого перебігу грипу проведений в США, показав, що 60% пацієнтів склали особи молодші 18 років і лише 5 % – старші 50 років [141]. Низький відсоток осіб похилого віку деякі вчені пояснюють наявністю імунологічної пам'яті в цієї категорії пацієнтів, що підтверджено присутністю в сироватці крові захисних титрів перехресно реагуючих антитіл до пандемічного вірусу грипу А/Н1N1 – у 33 % обстежених старших 60 років, проти 6-9 % у осіб 18-60 років та повну їх відсутність у дітей. Таким чином, дослідження проведене Centers for Disease and Prevention

показало, що особи, які народилися до 1930 року, були більш захищеними в період пандемії 2009-2010 років, порівняно з народженими після 1980 року [120]. Підтвердженням цьому є дані вивчення вікової структури пацієнтів із летальним наслідком від грипу, ускладненого пневмонією, протягом 2009 року в Мексиці, яка перша зіштовхнулася з вірусом A/H1N1/California/04/2009. Серед померлих 87 % виявилися віком від 5 до 59 років, порівняно з 17 % цієї вікової групи під час минулих епідемій [128, 227].

Окрім того, у численних дослідженнях вивчена роль преморбідного фону пацієнтів, які потребували інтенсивної терапії та з летальним наслідком. Так, за даними різних авторів показано, що ожиріння мало місце у 13,3-31,2 % пацієнтів, хронічне обструктивне захворювання легень та бронхіальна астма – у 8,9-22,7 %, серцево-судинна патологія – у 7,1-15,6 %, вагітність – у 6,3-9 % [8, 34, 48, 62]. Проте, за висновками ВООЗ і досліджень, проведених у різних країнах, третина пацієнтів із тяжким та ускладненим перебігом грипу не мала загальноновизнаних факторів ризику несприятливого перебігу захворювання [127, 138, 233, 266]. Це підтверджує припущення про те, що преморбідний фон не завжди є визначальним у розвитку тяжких форм грипу і може вважатися фактором ризику лише в сукупності з імунними порушеннями, характерними для грипу [10]. Таким чином, наведені дані свідчать про необхідність подальшого вивчення факторів, які можуть впливати на перебіг грипу та його наслідки.

Останнім часом набуло широкого розповсюдження поняття про імунопатогенез інфекцій, під яким розуміють безпосередню участь механізмів імунної відповіді, як в процесі одужання, так і в клінічних проявах хвороби [38]. Кооперація цих механізмів, а саме механічного бар'єру, вродженого неспецифічного захисту і специфічної імунної відповіді направлені на рекогніцію, локалізацію, кілінг та елімінацію інфекційних агентів для підтримки відносної стерильності респіраторного тракту [2]. Вважається, що для того, щоб відбулося інфікування, вірус повинен подолати фактори неспецифічної резистентності дихальних шляхів, представлені в'язкими



властивостями слизу, постійним рухом вий циліндричного епітелію, неспецифічними інгібіторами реплікації вірусу, які містяться в секреті дихальних шляхів, макрофагами, секреторним IgA. Також факторами неспецифічного захисту є лектини С-типу (конаглютинін, манозозв'язуючий білок, білки А і D сурфактанту), які зв'язуються з вуглеводами вірусу, викликають його агрегацію та призводять до опсонізуючої дії [53]. При неспроможності зазначених механізмів вірус проникає в більш глибокі шари епітелію, де зустрічається з другою лінією неспецифічного захисту, що включає активацію рецепторів вродженого імунного розпізнавання і запуск внутрішньоклітинних сигнальних каскадів, які ведуть до індукції ключових медіаторів відповіді на вірусні інфекції [262]. Як відомо, до факторів імунологічного неспецифічного противірусного захисту належать гуморальні (інтерферони, інтерлейкіни, хемокіни, система компліменту, природні антитіла) і клітинні (toll-like рецептори, рецептори цитокінів, НК-клітини, моноцити і макрофаги, дендритні клітини) фактори [43].

Доведено, що в основі вродженої відповіді на вірус грипу лежать ранні цитокінові реакції (РЦР). Класичним прикладом РЦР є синтез інтерферонів (IFN) [53]. Систему інтерферонів вважають головним неспецифічним гуморальним фактором противірусного захисту. Це група низькомолекулярних білків, які синтезуються клітинами-мішенями при взаємодії з ними вірусних часток (віріонів) або їх компонентів (нуклеїнових кислот, білків) [37, 47]. Полігенне сімейство інтерферонів об'єднує IFN I, II та III типу. На сьогодні відомо, що головна роль у ранній противірусній відповіді належить інтерферонам першого типу (інтерферони  $\alpha$  і  $\beta$ ), а також спорідненого з ними інтерферону третього типу (інтерферон  $\lambda$ ) [3, 36, 85, 132, 150]. IFN I типу об'єднує 24 ізотипи IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\tau$ , IFN- $\omega$ , IFN- $\sigma$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\epsilon$ . Доведено, що всі ядерні, в тому числі і малодиференційовані клітини організму, продукують IFN I типу у відповідь на індукцію вірусною длРНК [169, 263]. Однак, різні представники групи IFN I типу продукуються різними клітинами. Так, IFN- $\alpha$  і IFN- $\omega$  продукуються гемопоетичними клітинами; IFN- $\beta$  –

фібробластами, гемопоетичними та епітеліальними клітинами; IFN- $\tau$  – трофобластами; IFN- $\kappa$  і IFN- $\epsilon$  – кератиноцитами і клітинами плаценти. Інтерферон III типу (IFN- $\lambda_1$ /IL-29, IFN- $\lambda_2$ /IL-28A, IFN- $\lambda_3$ /IL-28B) продукується епітеліоцитами респіраторного тракту, дендритними клітинами, моноцитами та макрофагами у відповідь на індукцію олРНК, длРНК, і CpG ДНК (CpG ДНК – ділянка ДНК, яка складається з більш ніж 500 пар основ) [101, 180, 256].

Біологічний ефект IFN здійснюється в три стадії: 1) індукція, у результаті якої відбувається депресія генів інтерферонів; 2) біосинтез і секреція молекул IFN; 3) взаємодія молекул інтерферонів із рецепторами оточуючих клітин [47, 84]. Біосинтез інтерферонів починається зі зв'язування віріону з мембранними рецепторами клітин. При цьому виникає мембранний сигнал, який адресується в ядро клітини та запускає транскрипцію генів відповідних інтерферонів. У результаті синтезується мРНК і відбувається трансляція поліпептидних ланцюгів інтерферонів на рибосомах [36, 85]. Доведено, що інтерферони не мають прямого противірусного ефекту, синтезуються, секретуються і проявляють біологічні ефекти переважно локально або переносяться з кров'ю та лімфою та діють на велику кількість клітин імунної системи [37]. Вони модифікують функцію макрофагів, натуральних кіллерів, стимулюють дозрівання дендритних клітин і диференціювання цитотоксичних Т-клітин. Окрім того, IFN підвищують експресію молекул головного комплексу гістосумісності (ГКГ) I і II класів, посилюють продукцію інших цитокінів, забезпечують своєчасну індукцію адаптивного імунітету у відповідь на вроджене імунне розпізнавання, здійснюють проапоптичну та імуномодулюючу дію [157, 204, 213].

Серед клітин, які беруть участь в інтерфероновій системі, умовно розрізняють дві функціональні групи. Першу групу складають клітини, які синтезують IFN, другу – клітини, які активуються IFN. Враховуючи аутокринну дію IFN, інтерферонпродукуючі клітини можуть бути й інтерферонактивованими одночасно, але не всі інтерферонактивовані клітини є інтерферонпродукуючими [3].

Мембрана клітин містить два типи рецепторів для інтерферонів (IFNAR-1 і IFNAR-2). Більшість з них є гетеродимерами та складаються з трьох фрагментів (доменів) – позаклітинного (ліганда), трансмембранного і внутрішньоклітинного (сигнального) доменів. Їм властива лише рецепція видоспецифічних молекул інтерферонів [85, 86, 114]. У результаті зв'язування молекул IFN із позаклітинним розпізнавальним доменом рецептора формується активаційний мембранний сигнал, який передається завдяки трансмембранній частині до внутрішньоклітинного домену. Цей домен функціонує в асоціації з групою внутрішньоклітинних сигнальних молекул, таких як JAK – STAT (білків трансдукторів сигналів і транскрипції), які діють за каскадним принципом і забезпечують проведення та посилення сигналу з мембрани в ядро клітини. В основі формування сигналу лежить активація цим доменом цитозольних тирозинових кіназ сімейства JAK, які фосфорилують STAT білки. Комплекс фосфорильованих STAT білків мігрує в ядро та селективно посилює транскрипцію групи генів, які контролюють біосинтез поліпептидів із різними функціями [16, 224]. До них належать длРНК-залежна протеїнкіназа (PKR), 2'5' - олігоаденілатсинтетаза (2'5' - OAS), рибонуклеаза L (RNase L) РНК-специфічна аденозиндезаміназа (ADAR), протеїни MxA, MxB (myxovirus (influenza virus) resistance 1 і 2, скрамблази-1 фосфоліпідів (PLSCR1) [4, 150]. Протеїнкіназа R, активуючись внаслідок зв'язування з вірусною длРНК, фосфорилує пов'язаний з рибосомою білок Р1 і  $\alpha$ -субодиницю фактора ініціації трансляції eIF-2, що обумовлює загальну супресію синтезу протеїнів, у тому числі і вірусних. Наслідком цього може бути загибель клітини, але і репродукція вірусу буде зупинена. У свою чергу 2'5' - OAS, активуючись після взаємодії з длРНК вірусних агентів, надає активної форми RNase L, яка розщеплює мРНК на окремі фрагменти, пригнічує утворення цілісної РНК вірусів. Функція протеїну ADAR1 полягає в дезамінуванні аденозину, із наступною посттранскрипційною модифікацією вірусної РНК по типу «A-to-I» (аденозин в інозин) та порушенні функціонування вірусних РНК. Розміщений в цитоплазмі протеїн MxA, опосередковано знижуючи активність імпорину- $\alpha$ ,

блокує транспорт вірусних часток у ядро клітини, а МхВ розміщений у ядрі, репресує транскрипцію вірусного геному та запобігає подальшій побудові вірусу [131, 175, 177, 189, 210].

Ще одним важливим компонентом вродженого імунітету в захисті від вірусних інфекцій, в тому числі від грипу, є НК-клітини, активація яких відбувається за участі IFN I типу, а також прозапальних цитокінів, таких як IL-15, IL-12 та IL-18. Характерна особливість НК-клітин – присутність в їх цитоплазмі цитотоксичних гранул із високим вмістом протеаз – гранзимів (ініціюють апоптоз), а також білку перфорину, який утворює пори в клітинній мембрані, що дозволяє цим клітинам негайно здійснювати цитотоксичну функцію [36, 92]. На поверхні мембрани НК-клітин розміщені два типи рецепторів – активаційний та інгібіторний. Інгібіторний рецептор розпізнає широкий спектр молекул I класу ГКГ, які експресовані на соматичних клітинах. При цій взаємодії на мембрані НК-клітини виникає інгібіторний сигнал, який попереджає лізис нормальних клітин-мішеней [114]. Інфіковані вірусом клітини-мішені, як правило, характеризуються зниженою експресією молекул I класу на своїй поверхні і розпізнаються активаційним рецептором цих клітин. При цьому інгібіторний сигнал недостатній або взагалі відсутній. У результаті відбувається прикріплення НК-клітин до поверхні клітин-мішеней, із наступним вивільненням молекул перфорину, який досягає мембрани, інфікованої вірусом клітини, та викликає її пошкодження шляхом утворення трансмембранного каналу. Через цей отвір у цитоплазму клітини-мішені потрапляють білки-гранзими, які запускають механізм апоптозу [85]. Встановлено, що саме на ранніх стадіях вірусної інфекції спостерігається процес інтенсивного збільшення вмісту НК-клітин у периферійній крові хворих [261]. У свою чергу, активовані НК-клітини секретують інтерферон  $\gamma$ , який впливає на дозрівання та ефекторні функції клітин, залучених до протівірусної відповіді: макрофаги, гранулоцити, лімфоцити і дендритні клітини [36].

Таким чином, на першому етапі РЦР відбувається три взаємопов'язані дії: внутрішньоклітинне пригнічення інтерферонами репродукції вірусів; видалення

за допомогою NK-клітин та цитотоксичних Т-лімфоцитів інфікованого матеріалу; захист інтерфероном навколишніх незаражених клітин від можливого інфікування [53].

Однак, зазначені ефекти IFN можуть бути недостатніми для завершення інфекційного процесу, що можливо при зниженні опірності організму, дефектності системи інтерферону та імунітету, несприятливій екологічній ситуації, дії стресів та ін. У результаті розвивається гостре захворювання, яке супроводжується продукцією каскаду ранніх цитокінів (другий етап РЦР), активацією CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> із наступним розвитком специфічного, опосередкованого Т- і В-клітинного імунітету. До ранніх прозапальних цитокінів, окрім IFN I типу, належать фактор некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкіни IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, фактор, який трансформує ріст (TGF) [53, 65].

Доведено, що основна функція хемокінів і цитокінів полягає в залученні додаткових клітин запалення з інших областей організму. Хемокіни направляють моноцити, нейтрофіли та лімфоцити, які несуть необхідні хемокінові рецептори до місця знаходження інфекційного агента. Цитокіни активують синтез і вивільнення розчинних антимікробних агентів, таких як комплімент і білки гострої фази запалення (С-реактивний білок і манозазв'язуючий лектин), а також стимулюють ріст, диференціювання та активність ефекторних клітин неспецифічної імунної системи [42].

Значна кількість досліджень доводить існування тісного взаємозв'язку між рівнем продукції цих молекул і клінічними характеристиками інфекційного процесу, в тому числі, при грипі [40, 88, 123, 179, 242]. Так, недостатня продукція цитокінів може призвести до слабкої імунологічної відповіді як на клітинному, так і гуморальному рівні, а гіперпродукція – стати причиною розвитку системної запальної відповіді [80]. Надмірна продукція прозапальних цитокінів при грипі отримала назву «цитокінової бурі» й характеризує стан, при якому поряд із підсиленням імунітету переважають процеси пошкодження різних органів та тканин із наступним розвитком поліорганної недостатності та

летального наслідку [41, 259]. Патогенну дію гіперцитокінемії доведено в ряді досліджень при грипі А/Н1N1 і А/Н5N1, де розвиток цього патологічного стану пов'язують із неконтрольованою реплікацією вірусу [108, 146, 191].

У теперішній час механізм патогенної дії надмірної кількості прозапальних цитокінів при грипі пояснюють запуском трипсин/ММР-9 циклу в клітинах багатьох органів і тканин, особливо в ендотеліоцитах, що призводить до руйнування матриксу навколо мікросудин, збільшення проникності судин і пригнічення продукції АТФ у клітинах та, як наслідок, – до «енергетичної кризи клітин». Встановлено також, що ІЛ-18 у синергізмі з ІЛ-12 та ІFN ( $\alpha$  і  $\beta$ ) викликають продукцію інших прозапальних цитокінів Th-1 лімфоцитами, які, в свою чергу, можуть спричинити руйнування тканин шляхом надлишкової стимуляції вироблення макрофагами TNF- $\alpha$ , вільних радикалів кисню та оксиду азоту [186].

Кардинальну роль TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8 у патогенезі тяжкого перебігу грипу доведено в дослідженнях вітчизняних та закордонних учених. Так, показано, що концентрація ІЛ-6 у периферичній крові хворих на грип А/Н1N1 була достовірно вищою у пацієнтів із тяжким перебігом захворювання з розвитком ГРДС, ніж при середньотяжкому [88, 123, 191, 242]. Отримані результати свідчать про вірогідний зв'язок між підвищеним рівнем ІЛ-6 та ступенем пошкодження тканин. Як відомо, ІЛ-6 є одним із головних медіаторів пошкодження тканин при опіках, травмах, ішемії, після проведення хірургічних втручань та ін. [88]. Підвищені рівні цього цитокіну також визначали в дітей раннього віку з тяжким перебігом респіраторно-синцитіальної вірусної інфекції [209].

В інших дослідженнях у хворих із тяжким перебігом грипу, особливо ускладненим запальним процесом у легенях і ГРДС, визначали достовірно вищий рівень ІЛ-8, що дало підстави дослідникам припустити участь ІЛ-8 в реалізації системної запальної реакції, обумовленої гіперпродукцією цитокінів ефекторними клітинами крові, саме при тяжкому перебігу захворювання [40, 123, 191, 242].

У дослідженні Афанасьєвої О. І. при тяжких формах грипу також відмічено достовірно значуще підвищення рівня TNF- $\alpha$ , який у низьких концентраціях діє в місці свого утворення як пара- і аутокринний регулятор імунозапальної реакції проти інфекції, стимулюючи хемотаксис нейтрофілів до вогнища запалення, а у високих – сприяє розвитку токсичного септичного шоку, гіпертермії, поліорганної недостатності, які спостерігаються при тяжких формах інфекційного процесу [10].

Значуще збільшення IL-10 при тяжкому та ускладненому перебігу грипу, порівняно з середньотяжким, вірогідно, є результатом активації імунокомпетентних клітин Th2-типу, особливо клону клітин, які синтезують IgE, що не завжди вважається сприятливим явищем, обумовлюючи алергічну реактивність організму. Окрім того, висока концентрація IL-10, який належить до класу імуносупресивних цитокінів, з одного боку послабляє запальні реакції, пов'язані з імунним захистом, а з іншого – робить його менш ефективним, пригнічуючи основну протективну відповідь Th1-типу. Припускається, що з цим фактом пов'язаний розвиток ускладнень та тривалий перебіг хвороби [10].

У науковій літературі висловлюється думка про те, що IL-1 $\beta$  є одним із ключових медіаторів захисних реакцій організму та найбільш важливий регулятор цитокінового каскаду [75, 81]. Він ініціює залучення в запальну реакцію різних клітин імунної системи, що дає підстави вважати його центральним раннім прозапальним цитокіном, у компетенцію якого входить не лише реалізація як місцевої, так і системної запальної реакції організму, а й регуляція імуногенезу [20, 22, 46]. Саме IL-1 $\beta$  ініціює «гострофазні реакції» – лихоманку, лейкоцитоз, продукцію та секрецію гострофазних білків, експресію інтегринів, хемотаксис гранулоцитів [11, 24, 25, 79]. Так, у дослідженні Афанасьєвої О. І., на підставі отриманих результатів доведено зв'язок надмірного підвищенням IL-1 $\beta$  у сироватці крові з розвитком вираженої температурної реакції та інтоксикаційного синдрому. Відмічено достовірно вищий рівень IL-1 $\beta$  у хворих із тяжким перебігом грипу, порівняно з середньотяжким, а зниження цього показника в динаміці (5-7 день

захворювання) відповідало згасанню інтоксикаційного синдрому, не передбачаючи розвиток ускладнень, що за умови нормальної продукції IFN- $\gamma$  забезпечувало можливість адекватної імунної Th1-відповіді та нетривалого перебігу захворювання [10].

Таким чином, результати досліджень вітчизняних та закордонних учених дозволили виділити цитокіни в якості маркерів загрозливих станів у хворих на грип, як визначальних більшості виражених системних змін організму хворих, які знаходяться в тяжкому, критичному стані.

Розвиток специфічного противірусного імунітету при грипі пов'язаний винятково з лімфоцитами а саме з Т- і В-клітинами. Невід'ємними компонентами адаптивного імунітету є допоміжні клітини системи мононуклеарних фагоцитів – моноцити, макрофаги дендритні клітини [85]. Першими на інфекцію починають реагувати макрофаги, у них проходить розщеплення вірусу на окремі пептиди, які рухаються до поверхні клітини, де вони контактують із молекулами ГКГ I та II класів. Виражена синергічна дія IL-1 і IL-2 сприяє проліферації попередників Т-клітин у вилочковій залозі. До вогнища інфекції направляються Т-хелпери, яким і презентуються фрагменти антигену в комплексі з молекулами ГКГ. В активації Т-хелперів беруть участь IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ . Можлива ситуація, коли Т-лімфоцити здатні безпосередньо зв'язувати вірусні антигени разом з антигенами II класу ГКГ. Надалі підключаються цитотоксичні лімфоцити та НК, які є основними факторами ліквідації інфікованих вірусом клітин. Але роль CD8+ двояка: з одного боку, вони більш ефективно, порівняно з іншими субпопуляціями, елімінують вірус із нижніх відділів дихальних шляхів, з іншого – посилюють реакції локального запалення, спричиняючи в експерименті розвиток ГРДС. Результатом цієї взаємодії може бути перемога вірусу, яка спонукає макроорганізм приєднати фактори гуморального імунітету [53]. Реакція у відповідь В-лімфоцитів починається зі зв'язування вірусних білків із молекулами поверхневих рецепторів (імуноглобулінів), експресованих на мембрані наївних В-клітин. Пов'язаний із рецептором В-лімфоцитів антиген піддається ендоцитозу й



розщеплюється до олігопептидів, які зв'язуються з певними алелями молекул ГКГ II класу.

Антигени, підготовлені макрофагами, активують Т- і В-лімфоцити, які перетворюються в плазмоцити та продукують антитіла класу IgA. Виконуючи важливі ефекторні функції, IgA відіграє роль молекули, що регулює функції клітин імунної системи, а саме, альвеолярних макрофагів, які несуть рецептори до Fc-фрагменту цього Ig. Так, імунні комплекси, які містять антитіла класу A, індукують у моноцитах-макрофагах синтез TNF- $\alpha$  і C3-компліменту C. Секреторні IgA зв'язують вірус і перешкоджають його виходу з організму в активній формі, що обмежує циркуляцію вірусу серед людей [53]. В імунному захисті від грипу, окрім IgA, визначна роль належить IgM та IgG. Так, IgM, утворюючись першим при первинному вторгненні антигену, локалізує віруси у вхідних воротах інфекції, забезпечуючи місцеву резистентність. Основною його функцією є залучення фагоцитуючих клітин у місця локалізації антигену та активація фагоцитозу. Найбільш повноцінний захист від грипу забезпечується високим рівнем специфічних протигрипозних IgG, які є основними антитілами вторинної імунної відповіді [34].

Відомо, що після згасання імунної відповіді в організмі залишається специфічна імунологічна пам'ять, яку забезпечують клітинні механізми (Т- і В-лімфоцити), в тому числі місцеві, на вхідних воротах збудника інфекції. Існує чітка кореляція несприйнятливості до грипу з концентрацією антитіл у крові (в основному IgG) і секреті дихальних шляхів (IgA). Таким чином, між специфічними механізмами протигрипозного імунітету існує розподіл захисних функцій: секреторні антитіла, які пригнічують репродукцію вірусу на вхідних воротах інфекції, забезпечують протиепідемічний захист, направлений на обмеження розповсюдження та передачу збудника від інфікованих осіб здоровим; сироваткові антитіла нейтралізують токсичні продукти вірусу й регулюють клінічну тяжкість хвороби; клітинно-опосередковані фактори імунітету знищують резервуар вірусу в інфікованих клітинах, які недосяжні для впливу антитіл [53].

На сьогодні, у лікуванні грипу застосовується комплекс етіотропних, патогенетичних та симптоматичних засобів, які направлені на збудника хвороби, дезінтоксикацію організму, підвищення його захисних сил, ліквідацію запальних та больових проявів, профілактику ускладнень [71]. У літературі наводяться переконливі дані, що етіотропна терапія не тільки скорочує тривалість та зменшує тяжкість перебігу грипу, але й знижує ризик виникнення бронхіту та пневмонії – найчастіших ускладнень грипу, а також летального наслідку в пацієнтів із груп ризику [171]. Етіотропне лікування спрямоване на порушення репродукції вірусу грипу в організмі людини і включає препарати двох груп з доведеною клінічною ефективністю: блокатори М2-каналів (амантадин, ремантадин) – засоби першого покоління та інгібітори нейрамінідази (занамівір, озельтамівір) – засоби другого покоління.

Механізм дії ремантадину полягає в блокуванні М2-каналів, що перешкоджає проникненню вірусу в клітину та інгібує його реплікацію на ранніх стадіях інфекційного процесу. Однак, враховуючи недоліки адамантанів, а саме неефективність проти вірусу грипу В та стрімке зростання числа резистентних штамів, ВООЗ рекомендує обмежити їх використання проти циркулюючих у теперішній час збудників [78]. Інгібітори нейромінідази ефективні проти вірусів грипу А та В і представлені на сьогодні двома препаратами, які дозволені до застосування в Україні – озельтамівір та занамівір. Озельтамівір після прийому всередину гідролізується, перетворюючись в активну форму озельтамівіру карбоксилату, яка, у свою чергу, інгібує нейрамінідазу – фермент, який бере участь у реплікації вірусу грипу. Натомість занамівір – це структурний аналог сілової кислоти, яка є природним субстратом нейрамінідази вірусів грипу. Занамівір конкурує з нею за зв'язування з активною частиною ферменту [39]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ та наказу МОЗ України № 499 від 16.07.2014 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при грипі та гострих респіраторних інфекціях» у хворих на грип етіотропна терапія має проводитися інгібіторами

нейромінідази. Призначення противірусних препаратів слід розглядати в осіб із високим ризиком розвитку ускладнень грипу та у пацієнтів, які потребують госпіталізації [58, 78].

Противірусну терапію доцільно розпочинати в перші 24–48 годин хвороби навіть без специфічного лабораторного підтвердження грипу (особливо в період епідемії, коли діагноз встановлюється в більшості випадків на підставі клінічної картини хвороби) [100]. У випадках, коли лікування розпочато пізніше, ефективність етіотропних препаратів суттєво знижується, а також підвищується ризик виникнення ускладнень та летального наслідку хвороби, особливо в групах ризику [156]. Проте ВООЗ рекомендує починати противірусну терапію і пізніше 48 годин від появи перших клінічних проявів, якщо хвороба має тяжкий перебіг або стан пацієнта погіршується [78]. Окрім етіотропної терапії в залежності від ситуації хворим на грип повинна призначатися патогенетична (оксигенотерапія, антибіотикотерапія) та симптоматична терапія (жарознижувальні, відхаркувальні та муколітичні засоби, деконгестанти та ін.) [58].

На сьогодні у світі існує загроза виникнення наступної пандемії, яку можуть спричинити віруси з пандемічним потенціалом А/Н5N1 та А/Н7N9 [44], тому наукові дослідження спрямовані на пошук нових ефективних противірусних препаратів. У теперішній час ряд препаратів знаходяться на етапі розвитку та клінічних досліджень. Один з них Nitazoxanid містить сполуку thiazolid, яка пригнічує реплікацію широкого спектру вірусів грипу та парагрипу. Механізм дії препарату полягає в стимуляції вродженого імунітету через інтерферон-індукуючі шляхи, а також пригніченні дозрівання гемаглютиніну під час реплікації вірусу [241]. У теперішній час проходить III фазу клінічних досліджень препарат інгібітор полімерази фавіпіравір у лікуванні неускладненого перебігу грипу [257]. Крім того, активно вивчається терапевтичне застосування моноклональних антитіл, спрямованих на консервативні ділянки гемаглютиніну. Ці препарати (CR6261 і CR8020) вже довели профілактичну та лікувальну ефективність як проти сезонного грипу А і

В, так і проти високопатогенного А/Н5N1 в експериментальних дослідженнях на тваринах і в 2013 році розпочато їх клінічні випробування [200, 208].

Із відкриттям молекулярного патогенезу та клітинних сигнальних шляхів гострого пошкодження легень, спричиненого вірусом грипу А/Н5N1, активно почали вивчатися препарати, які здатні попередити розвиток цього патологічного стану, пов'язаного з надмірною продукцією цитокінів [147]. В експерименті Imai Y. та співавт. [168] встановили, що під дією пошкоджуючого фактору, у тому числі і вірусу А/Н5N1, відбувається активація легеневих макрофагів із наступним розвитком окислювального стресу та утворенням активних форм кисню (ROS). У свою чергу ROS генерують велику кількість окислених фосфоліпідів, які активують продукцію прозапальних цитокінів через TLR4/TRIF/TRAF6/NF-κB сигнальний каскад. На підставі отриманих результатів учені припустили, що агенти, які здатні переривати один чи більше етапів внутрішньоклітинного сигнального каскаду, можуть зменшити тяжкість гострого пошкодження легень при пандемічному грипі та А/Н5N1, тим самим попередити або направити в зворотному напрямку розвиток поліорганної недостатності. Такі властивості в експериментальних дослідженнях показали препарати статини та агоністи рецептора проліферації пероксисом фібрати і глітазони. Здатність статинів пригнічувати запальний процес уже доведена в лікуванні пневмонії, хронічного обструктивного захворювання легень та хворих, які знаходяться в критичному стані [174, 228]. У теперішній час проходить клінічне випробування у пацієнтів із тяжким перебігом грипу А/Н1N1, які потребують ШВЛ препарат із групи статинів розувастатин [90].

На сьогодні не підлягає сумніву, що ефективна боротьба з грипом можлива лише шляхом масової імунопрофілактики. ВООЗ вважає вакцинацію найбільш ефективним, безпечним та економічно виправданим засобом профілактики грипу. При відповідності епідемічних та вакцинних штамів і наявності лабораторно підтвердженої діагностики вакцинація інактивованими грипозними вакцинами попереджає випадки захворювання у 70-90 % здорових осіб. У людей похилого віку вакцинопрофілактика веде до зниження частоти

госпіталізацій із приводу грипу на 50-60 %, летальності – на 80 % [267]. Особливе значення має імунізація груп населення підвищеного ризику розвитку ускладнень при грипі, до яких належать: вагітні, хворі на цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання легень та серця, особи старших вікових груп та ін. Доведено, що вакцинація здатна знизити частоту загострень бронхіальної астми на 60-70 %, хронічного обструктивного захворювання легень на 76 % [68, 95]. За даними ВООЗ саме завдяки щорічній вакцинопрофілактиці серед груп ризику в останні роки вдалося суттєво знизити інтенсивність епідемій грипу в багатьох європейських країнах та США [267]. Відповідно до наказу МОЗ України № 499 від 16.07.2014 р. та Американської асоціації інфекціоністів щеплення проти грипу є основним інструментом для запобігання захворювання на грип, і противірусна хіміопрофілактика не є альтернативою щепленню. Хіміопрофілактика може розглядатися лише в осіб із високим ризиком розвитку ускладнень, яким вакцинація протипоказана, недоступна або матиме низьку ефективність (особи зі значно ослабленим імунітетом), а також у ситуаціях, коли існує документальне підтвердження низької клінічної ефективності вакцини проти грипу через циркуляцією в громаді штамів, що антигенно відрізняються від вакцинних [58, 226]. У теперішній час відомо чотири покоління вакцин проти грипу. До I покоління відносяться цільновіронні живі та інактивовані вакцини, застосування яких в Україні на сьогодні заборонено. Вакцини II покоління (спліт-вакцини) містять частини зруйнованого вірусу, гемаглютинін, нейромінідазу та внутрішні білки. До III покоління належать субдиничні вакцини, які містять лише поверхневі білки (гемаглютинін та нейромінідазу) і мають високі показники імуногенності та безпечності. Вакцини IV покоління, окрім поверхневих білків вірусу містять ад'ювант – речовину, яка використовується для підсилення імунної відповіді [45].

Дослідження останніх років в області вакцинації проти грипу спрямовані на пошук універсальних вакцин, які будуть забезпечувати захист проти всіх штамів сезонного та пандемічного грипу А. Такий підхід вирішить ряд

проблем, які існують із сучасними вакцинами: прогнозування штамів, які будуть циркулювати в наступному епідсезоні, трудомісткий процес вирощування та виділення вірусів-кандидатів, який вимагає значних економічних витрат. Окрім того, традиційні вакцини практично позбавлені можливості реагувати на появу пандемічних штамів [258]. Розробка універсальних вакцин сконцентрована на білкових вірусних структурах, які висококонсервативні в різних підтипів вірусу – це білок іонного каналу M2, домен гемаглютиніну HA2, нуклеопротеїн та ін. Однак, експериментально доведено, що ці вірусні антигенні мішені мають недостатній імуногенний ефект, тому до складу універсальних вакцин-кандидатів почали включати ад'юванти. Так, на сьогодні знаходиться на стадії клінічних випробувань вакцина, що містить ектодомен вірусного білка M2 та агоніст TLR-5 флагелін, який посилює відповідь вродженої та адаптивної імунної системи на вакцинацію [198, 207]. Крім того, в 2014 році опубліковані попередні результати досліджень іншої універсальної вакцини проти передпандемічного вірусу H5N1 для інтраназального введення, яка містить агоніст TLR-3 Ampligen [181].

Проблемою сучасних вакцин проти грипу є низька їх ефективність в осіб похилого віку, яка коливається в межах 17-53 %. Експериментально доведено, що цей феномен пов'язаний зі змінами в експресії та функціях TLR, рецепторів вродженого імунітету, що забезпечують молекулярну ідентифікацію патогену та відіграють вирішальну роль у ранньому захисті організму від чужорідних структур. У дослідженні Panda A. та співавт. [97] показано зниження експресії TLR-1, TLR-3 і TLR-8 в мієлоїдних (MDC) та TLR-7 в плазмацитоїдних дендритних клітинах (PDC), отриманих від людей похилого віку. Крім того, MDC продемонстрували низькі рівні утворення TNF- $\alpha$ , IL-6 та IL-12 після стимуляції лігандами TLR-1, TLR-2, TLR-6, TLR-3, TLR-5, TLR-7 і TLR-8, у той час, як PDC показали низькі рівні TNF- $\alpha$  та IFN- $\alpha$  після стимуляції TLR-7, TLR-8 та TLR-9.

Один із напрямків підвищення ефективності вакцин проти грипу в людей похилого віку, який на сьогодні активно вивчається, заснований на застосуванні агоністів TLR. У дослідженнях на тваринних моделях показали ефективність вакцини-кандидати, які містили у своєму складі в якості ад'ювантів ліганди TLR-3, TLR-5 і TLR-9 [211].

Таким чином, протягом останніх років вроджений імунітет та особливо його складова Toll-подібні рецептори стали центром активних міжнародних досліджень. Висловлюється думка, що з'ясування ролі TLR при інфекційній патології дозволить провести своєчасну діагностику, завчасно прогнозувати характер перебігу хвороби, вивчити патогенетичні аспекти розвитку патології, а також обґрунтувати вибір адекватної терапії [26]. Тому сучасні дослідження TLR спрямовані як на вивчення ролі в патогенезі інфекційної патології, так і на пошук лікарських препаратів, здатних впливати на їх функцію.

## **1.2 Визначення ролі Toll-подібних рецепторів у патогенезі інфекційних захворювань**

Визначення важливої ролі вродженого імунітету прийшло разом із ідентифікацією паттерн розпізнавальних рецепторів (ПРР), а саме сімейства еволюційно-консервативних рецепторів, відомих у науковій літературі як TLR, які відіграють вирішальну роль у ранньому захисті організму від патогенів [50]. ПРР знайдені на поверхні всіх клітин вродженого імунітету: моноцитах, макрофагах, нейтрофілах, еозинофілах, базофілах, огрядних клітинах. Крім того, вони виявлені на всіх структурах адаптивного імунітету, що іще раз підтверджує важливу роль ПРР у регуляції цілісної імунної системи організму. Відповідно до сучасних уявлень, TLR вважаються центральним елементом багаторівневої системи розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних структур (pathogen-associated molecular patterns – PAMP) [142, 193, 270]. Відкриття лігандів TLR відбувалось паралельно з відкриттям самих рецепторів: першочергово вивчались консервативні молекулярні структури патогенних мікроорганізмів, надалі була доведена специфічність їх взаємодії з TLR [50]. На

сьогоднішній день визначена лігандна специфікація практично для всіх ПРР [50, 64, 69]. Так, TLR-2 взаємодіють із ліпопротеїдами грам-позитивних бактерій; TLR-3 – із вірусною длРНК; TLR-4 – із ліпополісахаридом (LPS) грам-негативних бактерій; TLR-5 зв'язується з флагеліном джгутикових бактерій; TLR-6 – із ліпотейхоєвою кислотою (компонент грам-позитивних бактерій) та зімозаном, який виділяється дріжджовими мікроорганізмами; TLR-7 та TLR-8 зв'язується із вірусною олРНК; TLR-9 – із CpG-збагаченою ділянкою ДНК бактерій або вірусів [87]. Епітеліоцити респіраторного тракту експресують усі відомі TLR (найбільш інтенсивно TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-6) [91]. TLR епітеліальних клітин слизової оболонки зосереджені на базальній поверхні цитоплазматичної мембрани [5].

Молекулярна структура TLR характеризується наявністю екстра- і інтрацелюлярного цитозольного доменів. Екстрацелюлярний варіабельний N-термінальний домен містить олігопептидні фрагменти з високим вмістом лейцинових повторів, які є структурно-молекулярною основою його здатності взаємодіяти з лігандами. Розміщений із внутрішньої сторони клітинної мембрани цитозольний C-термінальний домен містить послідовність із 200 амінокислотних залишків. Цитозольний домен бере участь у білково-білкових взаємодіях із компонентами внутрішньоклітинного сигнального шляху [107, 111]. Сигнальний шлях активації TLR складний та багатокомпонентний, але кінцевим етапом каскаду реакцій протеїнкіназ є активація транскрипційних факторів, які знаходяться в цитоплазмі клітини в заблокованому (неактивному) стані.

На сьогоднішній день відомо декілька груп транскрипційних факторів. Трансдукція сигналу збудження рецепторів TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6, і TLR-9 індукує активацію нуклеарного фактора транскрипції (NF-κB), рецепторів TLR-2, TLR-4, TLR-6, і TLR-9 – фактора AP-1, рецепторів TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-8, і TLR-9 – фактора IRF [111, 219].



Серед транскрипційних факторів найбільш вивченим є NF-κB, який відіграє головну роль у регуляції транскрипції генів, які беруть участь у реалізації процесів запалення, імунної відповіді, апоптозу клітин, контролю проліферації і диференціювання лімфоцитів, репарації тканин у респіраторному тракті, а також в інших органах [6, 72]. Установлено, що рівень трансактивності NF-κB епітеліоцитів, макрофагів і нейтрофілів визначає характер та вираженість процесу запалення в респіраторному тракті.

В основі регуляції активності запального процесу в респіраторному тракті лежить складний баланс прозапальних та протизапальних медіаторів. Фактори транскрипції NF-κB індукують велику кількість генів, відповідальних за синтез молекулярних структур, які беруть участь у розвитку запального процесу. Так, під впливом NF-κB посилюється продукція: цитокінів – IL-1β, IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, TNF-α, TNF-β, гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора, інтерферона-β, інтерферона-γ; хемокінів, адгезинів, гострофазних білків, імунорегуляторних та костимулюючих молекул, антигенів I і II класу ГКГ, β2-мікроглобуліну, α- і β-рецепторів T-клітин, індукцибельних ферментів, металопротеїназ екстрацелюлярного матриксу.

Дефіцит трансактивності NF-κB веде до безпосереднього зниження функціональної активності NK, T- і B-лімфоцитів, обумовлюючи швидку генералізацію патофізіологічного процесу, а гіперактивність NF-κB провокує розвиток некерованого прогресуючого запалення. На сьогодні відомо, що пригнічувати активність NF-κB здатні сучасні інгібітори запального процесу IL-10, глюкокортикостероїди, нестероїдні протизапальні засоби [6].

Основними факторами транскрипції IRF, які беруть участь у процесі збудження при взаємодії клітини з інфекційними агентами та визначають характер і рівень активності противірусного захисту організму, є IRF-3, IRF-5, IRF-7. Вони сприяють дозріванню антигенпрезентуючих клітин, індукують апоптоз уражених клітин, мобілізують макрофаги та NK-клітини, стимулюють синтез речовин, які мають противірусну дію, і продукцію цитокінів. Під час

розвитку респіраторних інфекцій фактори транскрипції IRF, взаємодіючи з ISRE, індуюють транскрипцію генів, які відповідають за синтез IFN- $\alpha/\beta$ . IRF-3 переважно активує транскрипцію генів, що кодують IFN- $\beta$ , IRF-7 – IFN- $\alpha$ , а IRF-5 – IFN- $\alpha$  і IFN- $\beta$  [2].

Розвиток гострих респіраторних вірусних інфекцій, в тому числі й грипу, супроводжується збудженням ряду Toll-подібних рецепторів (TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7, TLR-8 та TLR-9) [124, 263]. Приєднання вірусів на поверхні клітини сприймається зовнішніми TLRs, особливо TLR-2 і TLR-4, а проникнення всередину клітини – внутрішніми TLRs (TLR-3, TLR-7, TLR-8 та TLR-9) [114, 143, 189, 232, 268].

Найбільший інтерес з точки зору вивчення імунопатогенезу грипу та його ускладнень представляють TLR-2 та TLR-4, які взаємодіють із вірусним гемаглютиніном і цілими неактивними вірусними частинами, лігандами грам-позитивних і грам-негативних бактерій, а також TLR-3, який розпізнає длРНК – продукт реплікації та транскрипції вірусів, що містять як РНК-, так і ДНК [129, 185].

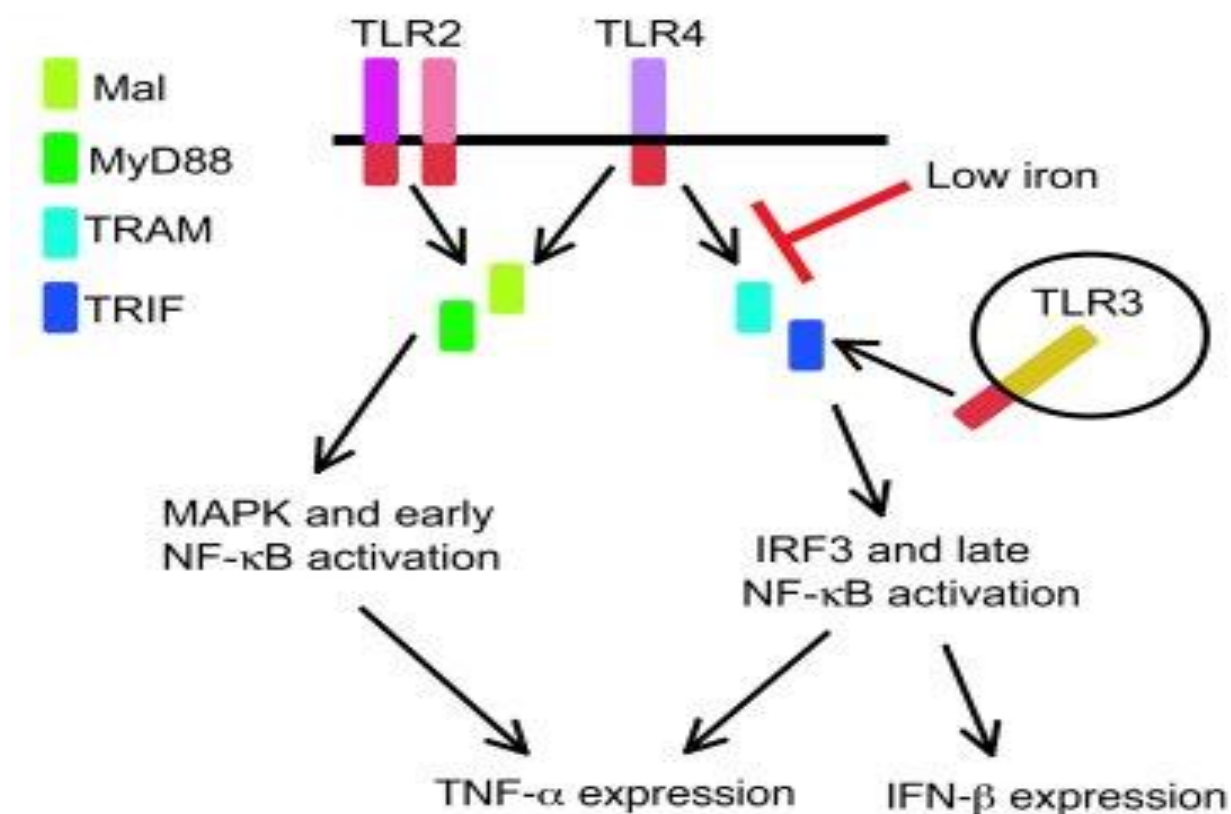
Рецептор TLR-2 бере участь у розпізнаванні широкого діапазону PAMP не лише бактерій, а й інших патогенних мікроорганізмів – вірусів, грибів і паразитів. TLR-2 взаємодіє з продуктами деградації мембранної стінки переважно грам-позитивних бактерій. Основними лігандами TLR-2 є триацильні ліпопептиди, протеїнглікани та ліпoteйхоєва кислота грам-позитивних бактерій, LPS *Legionella pneumophila* і *Leptospira interrogans*, поріни зовнішньої мембрани *Haemophilus influenza* і *Neisseria spp.*, ліпоарабіноманан мікобактерій, грибковий зимозан і гемаглютиніни вірусів.

Лігандами TLR-3 є вірусна длРНК, яка синтезується як проміжна ланка циклу реплікації вірусу або як частина вірусного геному РНК, ендогенна мРНК, інтерферуюча РНК. Розпізнавання вірусної длРНК TLR-3 відбувається винятково під час фагоцитозу апоптичної інфікованої вірусом клітини фагоцитуючою клітиною. Різні віруси (грипу, респіраторно-синцитіальний, гепатиту С, імунодефіциту людини та кору) збільшують експресію TLR-3.

Збудження TLR-3 є суттєвим фактором розвитку як запалення, так і аутоімунних захворювань. Показано, що індукція TLR-3 макрофагів та міелоїдних дендритних клітин обумовлює продукцію IFN- $\alpha$  і IFN- $\beta$  [7, 134, 149, 239].

TLR-4 задіяний у розпізнаванні значного спектру лігандів – пневмококового пневмолізину, менінгококового LPS, шаперона 60 (HSP60) *Chlamydia pneumoniae*, гліколіпідів *Treponema brennaborensis*, протеїнів вірусів, LPS грамнегативних бактерій. Рецептор TLR-4 – ключовий сенсор основного компоненту зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій LPS, у рекогніції якого беруть участь допоміжні молекули – LBP, CD14, MD-2. LPS перед індукцією TLR-4 взаємодіє з гострофазним білком LBP, який транспортує LPS до секреторного CD14 [2]. Комплекс LPS/CD14 взаємодіє з білком MD-2, який відіграє роль «посередника», одночасно зв'язуючись із LPS та ектодоменом TLR-4. Взаємодія комплексу LPS/CD14/MD-2 з ектодоменом TLR-4 супроводжується його конфірмаційними змінами та запускає сигнальний каскад збудження [244]. Наступні події процесу передачі сигналу залежать від внутрішньоклітинних молекулярних адаптерів. Збудження TLR призводить до активації двох основних внутрішньоклітинних молекулярних сигнальних каскадів – залежного (TLR-2 і TLR-4) та незалежного (TLR-3) від адапторного протеїну MyD88 (протеїну 88 первинної відповіді міелоїдної диференціації) (рис. 1.1) [183, 184].

Активация MyD88-залежного шляху починається із взаємодії адапторної молекули MyD88 із доменом молекули IRAK-4, яка фосфорилує кіназу IRAK-1. Остання призводить до збудження TRAF-6 (асоційований із рецептором некрозу пухлин фактор 6) та протеїнкінази TAK-1 із наступною активацією ядерного фактора транскрипції NF- $\kappa$ B [201]. Ядерний фактор NF- $\kappa$ B обумовлює продукцію прозапальних цитокінів, у тому числі ключового в розвитку запалення інтерлейкіну IL-1 $\beta$ , хемокінів, костимуляторних молекул, монооксиду азота [167, 201].



**Рис. 1.1** Функціонування та сигнальні шляхи TLR-2, TLR-3, TLR-4

[L. Wang, L. Harrington, E. Trebicka et. al. // J Clin Invest. –2009. – Vol. 119, № 11. – P. 3322–3328. – Режим доступу: <http://www.jci.org/articles/view/39939>]

Збудження MyD88-незалежного шляху відбувається через активацію інших адапторних молекул – TRIF/TICAM-1, яка взаємодіє з TIR доменом TLR-3 і TLR-4; TIRP/TRAM/TICAM-2, що взаємодіє з TIR доменом TLR-4 [137].

Активація адапторних молекул TRIF(TIR domain-containing adaptor inducing IFN- $\beta$  — TIR-доменвмісний адаптерний протеїн, індукуючий IFN- $\beta$ ) (TLR-3 і TLR-4) та TIRP (TLR-4) через індукцію ІКК-подібної кінази TBK-1 веде до активації інтерферон-регулюючих факторів транскрипції (IRF), які обумовлюють продукцію інтерферонів I типу (IFN-b) [113, 184, 187]. IFN-b діє аутокринно та паракринно, збуджуючи відповідні рецептори IFN (IFNAR). Активація IFNAR супроводжується індукцією тирозинових протеїнкіназ Jak (Jak1 і Tyk2), які фосфорилують такі фактори транскрипції, як сигнальні

трансдуктори та активатори транскрипції (signal transducers and activators of transcription – STAT) STAT1 і STAT2 [1]. Індукція сигнальних каскадів Jak-STAT веде до запуску транскрипції більш ніж 100 інтерферон-залежних генів, білкові продукти яких відіграють головну роль у протівірусному захисті (протеїнкіназа R, 2'-5'-олігоаденілатсинтетаза і діамін-подібні GTPази сімейства Mx) [36].

На сьогоднішній день однією із основних причин, яка впливає на зміни імунної відповіді TLR при інфекційній патології, вважається поліморфізм генів, які їх кодують. Накопичується все більше даних, які засвідчують, що поліморфізм одиничних нуклеотидів (single-nucleotide polymorphism – SNP) за рахунок формування специфічних алелей генів вносить важливий вклад у фенотипові відмінності між людьми, у тому числі, в індивідуальні особливості розвитку захисних реакцій, а також сприйнятливість до цілого ряду захворювань [12, 60, 63, 70, 73]. Відмінності в генах, які контролюють захисні реакції організму, можуть визначати різний характер перебігу запальної відповіді та специфічних імунологічних реакцій при контакті з чужорідними структурами. У першу чергу це стосується генів регуляторних молекул, які забезпечують початкові етапи розвитку запальної реакції: розпізнавання патогена, проведення внутрішньоклітинного активаційного сигналу та синтез медіаторів запальної реакції.

Поліморфізм генів передбачає, що з одного і того ж гена може бути скопійовано декілька варіантів, які структурно відрізняються від копії одного і того ж білка, з них частина скопійованих варіантів або не активна, або ж може мати протилежну функцію [87, 225]. Стосовно TLR-поліморфізму встановлено, що він може призводити до порушень розпізнавання інфекційних агентів і дисбалансу функціонування системи природженого імунітету та проявлятися підвищенням чутливості до інфекцій і розвитком хронічних запальних процесів [27, 153, 269]. Інші дослідження доводять, що поліморфізм генів TLR за рахунок виражених порушень імунної відповіді [244], обумовлює тяжкість

перебігу інфекційного процесу, який набуває характеру системної запальної відповіді, а також розвиток танатогенезу [164].

Із появою молекулярно-генетичних досліджень у науково-дослідних лабораторіях США вперше доведено, що генетичні дефекти, які відповідальні за синтез ПРР, призводять до неадекватного функціонування даних молекулярних структур, супроводжуючись порушенням трансдукції сигналу до ядерного фактору (NF-κB) та дискоординуваним синтезом прозапальних та протизапальних цитокінів [160, 188]. Таким чином, встановлено, що поліморфізм генів TLR може визначати рівень концентрації запальних та протизапальних цитокінів і, відповідно, обумовлювати гіперзапальний та гіпозапальний тип імунної відповіді.

На сьогоднішній день вивчення поліморфізму генів регуляторних молекул запалення займає вагоме місце в клінічній імунології, оскільки знання їх ролі в патогенезі багатьох захворювань, поряд із досягненнями сучасної геноміки, дозволяє прогнозувати ризик розвитку патології або тяжкість її перебігу. Одним із найбільш вивчених варіантів TLR-поліморфізму є TLR-4 (Asp299Gly), для якого характерне порушення здатності повноцінно зв'язуватись із лігандом, – бактеріальним ліпополісахаридом [212], що доведено в умовах *in vivo* та *in vitro* [27, 87].

Ген, який кодує структуру TLR-4 розміром 19 kb, розташований на дев'ятій хромосомі (9q32-33) в четвертому екзоні [223]. Більша частина SNP у кодованих ділянках генів (екзонах) елімінуються як в процесі репарації ДНК, так і в результаті природного відбору, оскільки призводить до серйозних порушень структури кодованого білка. Саме тому SNP в екзонах, що супроводжуються заміною амінокислоти, зустрічається досить рідко – лише в 5 % усіх точкових мутацій. Згідно сучасних уявлень більшість SNP-замін частіше стосуються 5-ї або 3-ї кінцевих регуляторних ділянок генів, наприклад, ділянки промотора або ж розташовуються в некодованих локусах (інтронах) та не відображаються на амінокислотній послідовності білка [192].

Секвестеризація людського TLR-4 дала можливість повністю визначити можливі варіації не гомологічних поліморфізмів у третьому екзоні регуляторного гену, який відповідальний за маркерування лейцинового домену. Але, незважаючи на значні коливання варіацій TLR-4 на LRR, частота таких поліморфізмів у людській популяції дуже низька (менше 1 %). Виняток становить поліморфізм Asp299Gly TLR-4, частота виявлення якого становить більше 5 %. Це, так зване, A/G заміщення, тобто причиною даного поліморфізму є заміна аспарагінової амінокислоти на гліцинову в положенні Asp299Gly (rs4986790). У результаті цього заміщення відбувається ротація вільних пептидних з'єднань та зміна заряду ділянки в позиції 299, що, в свою чергу, впливає на взаємодію LPS із TLR-4 [212].

Як наслідок, у носіїв цієї мутації зростає чутливість до грам-негативних інфекцій [251] та в той же час знижується ризик до розвитку атеросклерозу та ревматоїдного артрити [240, 248]. У новонароджених дітей поліморфізм Asp299Gly гену TLR-4 асоціюють із високим ризиком тяжкого бронхіоліту, викликаного RS-вірусом та підвищеною чутливістю до менінгококової інфекції [106, 165, 243]. Ряд наукових досліджень пов'язують Asp299Gly TLR-4 із розвитком гематогенного остеомієліту, системного кандидозу, хворобою Крона та виразковим колітом, бронхіальною астмою, сепсисом, спричиненим грам-негативними бактеріями, бактеріальними інфекціями, що передаються статевим шляхом [118, 161, 199, 238]. У свою чергу російські вчені встановили асоціацію мутантного алелю 299Gly із високою сприйнятливістю дітей до респіраторно-вірусних інфекцій та виявили зниження синтезу IL-1 $\beta$  у носіїв мутантних генотипів TLR-4 (Asp299Gly, Gly299Gly) [52].

Популяційні дослідження географічного поширення поліморфізму Asp299Gly TLR-4 проводили паралельно з іншим SNP у гені TLR-4 Thr399Ile в 15 популяціях із включенням 2491 особи. Отримані результати показали, що поєднання цих мутацій передбачає виділення чотирьох гаплотипів, які представлені в людській популяції, а саме: wt/wt, Asp299Gly/wt, Thr399Ile/wt, та Asp299Gly/Thr399Ile. Як показали генетичні дослідження, в Африканській

популяції в 10-20 разів частіше зустрічається гаплотип Asp299Gly/wt, ніж на інших континентах; втім Європеїдна популяція показала майже повну відсутність даного гаплотипу та високу частоту виявлення Asp299Gly/Thr399Ile гаплотипу. А в Азіатській популяції взагалі були відсутні всі три Asp299Gly/wt, Thr399Ile/wt, та Asp299Gly/Thr399Ile гаплотипи. Такі генетичні варіанти TLR-4 були обумовлені відмінностями патогенного навантаження на популяції різних континентів протягом міграції із Африки до Євразії, Європи, Азії, та Нового Світу [252].

Перші відомості про TLR-2 з'явилися в 1998 році в наукових працях Rock F. L. та співавт. [96], які визначили його як найменш специфічний серед Toll-подібних рецепторів, завдяки здатності розпізнавати широкий спектр патоген-асоційованих молекулярних структур (PAMPs), в тому числі ліпопротеїни, ліпопептиди, ліпoteйхоеву кислоту, ліпополісахариди, гліколіпіди, зимозан. На сьогоднішній день експериментально доведена участь TLR-2 у відповіді на вірусні інфекції. Так, встановлено, що тварини з дефектом TLR-2 після інфікування цитомегаловірусом (CMV) мали порушення НК-клітинної відповіді та, як наслідок, високе вірусне навантаження [218, 245]. В інших дослідженнях встановлено роль TLR2 в розпізнаванні неструктурного білку NS3 HCV та респіраторно-синцитіального вірусу [121, 158, 215, 231].

Визначення широко спектру PAMPs, у розпізнаванні яких задіяний TLR-2, спонукало вчених до пошуку зв'язку між мутаціями в гені, який кодує структуру PRR та схильністю до захворювань.

Ген, що кодує TLR-2, розміщений у людини в 4-й хромосомі 4q32. На сьогоднішній день зареєстровано більш ніж 175 однонуклеотидних поліморфізмів для цього гену, але функціонально значимими визнано п'ять із них, які здатні призводити до заміщення амінокислот у положеннях 643-784 і впливати на TLR-сигналізацію та димеризацію. В експериментальних моделях на тваринах доведено, що лише два SNP (Arg677Trp, Arg753Gln) пов'язані зі



зниженням NF-κB-активації та підвищеною сприйнятливістю до бактеріальних інфекцій [122, 154, 178, 236].

У дослідженні Merx S. та співавт. [122] встановлено, що клінічне значення має виключно поліморфізм Arg753Gln гену TLR-2, який на сьогоднішній день асоціюють із цілим рядом захворювань. Так, доведено, що носії цієї мутації мають підвищений ризик розвитку туберкульозу, гострої ревматичної лихоманки у дітей, септичного шоку, спричиненого грам-позитивними бактеріями [99, 234, 253]. Kang S. H. і співавт. [162] встановили асоціацію між носійством гомозиготного генотипу Arg/Arg та розвитком CMV-інфекції в пацієнтів після трансплантації печінки. Інше дослідження вказує на зв'язок мутантного генотипу Arg/Arg з розвитком недостатності трансплантату після пересадки печінки хворим на хронічний гепатит С, що стала причиною смерті всіх пацієнтів – носіїв мутації в гені TLR-2 [105, 217].

Отримані результати дозволили вченим визначити поліморфізм Arg753Gln гену TLR-2 в якості прогностичного маркера несприятливого наслідку після трансплантації печінки у хворих на хронічний гепатит С і запропонувати визначення його в кандидатів на трансплантацію, з метою виявлення осіб із підвищеним ризиком розвитку недостатності трансплантата та смертності, а в лікувальній тактиці цих пацієнтів перевагу надати противірусній терапії [217]. Участь TLR-2 в імунопатогенезі HCV-інфекції доведено в дослідженнях, проведених *in vitro* з використанням клітин, що містять мутацію Arg753Gln TLR-2, які показали неспроможність розпізнавати ядерний та NS3 протеїни HCV. Внаслідок цього надійна противірусна імунна відповідь була порушена [158, 182].

У той же час у літературі наведені дослідження, які доводять, що SNP Arg753Gln TLR-2 має протективний ефект від розвитку хронічного Лайм-бореліозу шляхом зниження сигналізації через TLR2/TLR1-комплекс. Відомо, що пізня стадія хвороби Лайма супроводжується вираженими імунними порушеннями, а індукція прозапальних цитокінів відбувається при взаємодії поверхневих білків B. Burgdorferi з TLR2/TLR1-комплексом.

У дослідженні Schröder N. W. та співавт. [159] встановлено, що клітини крові, зібрані від носіїв поліморфізму Arg753Gln TLR-2, мали значно знижену продукцію TNF- $\alpha$  та IFN- $\gamma$  у відповідь на лізат *B. Burgdorferi*, порівняно зі зразками з відсутністю мутації. В експерименті, проведеному Ioana M. та співавт. [136], спостерігали утворення нижчих рівнів IL-6 після стимуляції різними лігандами моноклеарних клітин від осіб із поліморфізмом Arg753Gln TLR-2, порівняно з носіями генотипу Gln753Gln.

Поряд із вивченням зв'язку між поліморфізмом Arg753Gln TLR-2 та схильністю до інфекційної патології вивчалась і поширеність цієї мутації в різних популяціях із метою пояснення відмінностей у сприйнятливості до інфекцій у різних етнічних групах. Так, встановлено, що Arg753Gln TLR-2 був розповсюджений із незначними коливаннями в усій європейській популяції з частотою близько 3 %, дещо вищою серед турецького – 4,7 % та кавказького населення – 9,4 %. [99, 122, 234]. На відміну азіатська популяція (Тайвань, Південна Корея, Індія) та одна з африканських когорт показали повну відсутність цієї мутації [152, 190, 247, 254].

За останні 10 років учені різних країн намагалися визначити роль TLR-3 в противірусній відповіді та довести на молекулярному рівні його ключову роль у захисті проти вірусів. На сьогоднішній день в експериментальних дослідженнях доведена участь TLR-3 в патогенезі багатьох вірусних захворювань, у тому числі дихальних шляхів, оскільки він безпосередньо залучений до розпізнавання вірусної длРНК епітеліальними клітинами легень [172, 230]. Роль TLR-3 вивчали в контексті інфекцій, обумовлених вірусом гепатиту С, ВІЛ, вірусом Денге, вірусом Західного Нілу, кору, простого герпесу, респіраторно-синцитіальним вірусом [103, 133, 139, 166, 265]. Все більше наукових джерел свідчать про те, що мутації в гені TLR-3, порушуючи функціонування Toll-подібного рецептора, можуть бути причиною підвищеної сприйнятливості до інфекцій, а також тяжкого та ускладненого їх перебігу.

Ген, який кодує структуру TLR-3, розташований на довгому плечі четвертої хромосоми в положенні 35 (4q35) та складається з п'яти екзонів [239].

Більш ніж 136 SNP визначені в гені TLR-3 та доведена здатність чотирьох із них призводити до амінокислотних замін. Шляхом молекулярного моделювання було встановлено, що найбільше впливають на функцію Toll-подібного рецептора лише два поліморфізми Asn284Ile та Leu412Phe, які розміщені в 4 екзоні гена TLR-3 [115, 140]. Однонуклеотидний поліморфізм Asn284Ile виявився досить рідкісним серед білого населення, тому зацікавленість учених ним була незначною [145]. На відміну SNP Leu412Phe показав високу частоту поширеності в європейській популяції, що спонукало науковців до вивчення його ролі у формуванні сприйнятливості до інфекційної та соматичної патології.

У дослідженні американських учених Brown R. A. та Razonable R. R. вивчали розповсюдженість та функціональну роль Leu412Phe серед пацієнтів, які потребували трансплантації печінки. Як виявилось, SNP Leu412Phe був присутнім у 45 % обстежених, при цьому у 8 % пацієнтів мутантна алель 412Phe визначалася в гомозиготному стані [115]. Отримані дані щодо поширеності Leu412Phe TLR-3 співпадають з іншими популяційними дослідженнями, які вказують на частоту цього SNP серед європейців, американців та азіатів ~ 30 % [220].

Порушення функціонування TLR-3 внаслідок заміни лейцинової амінокислоти на фенілаланінову в положенні Leu412Phe (rs3775291), пов'язують із негативним впливом цієї мутації на глікозилювання сусіднього залишку Asn413, що перешкоджає взаємодії його N-ацетилглюкозамінового фрагменту з длРНК [102]. Вивчення функціонального значення поліморфізму Leu412Phe проводили в декількох дослідженнях *in-vitro* на клітинах, що містять мутацію в гені TLR-3 та WT (дикого типу) шляхом аналізу інтерферон-індукованої відповіді. У ході експериментів було встановлено, що клітини з Leu412Phe знизили NF-κB та IFN-α сигналізацію на 30 %, порівняно з клітинами WT, у відповідь на стимуляцію polyinosinic-polycytidylic acid [poly(I:C)] [102, 140]. Результати цих досліджень дозволили науковцям

припустити, що поліморфізм Leu412Phe TLR-3 має певний вплив на перебіг інфекційного процесу.

На сьогодні вже доведений зв'язок SNP Leu412Phe TLR-3 із розвитком підгострого склерозуючого паненцефаліту при кору, міокардиту та дилатаційної кардіоміопатії при ентеровірусній інфекції [102, 104]. Так, у обстежених хворих на ентеровірусну інфекцію, із діагностованим поліморфізмом Leu412Phe TLR-3 вчені реєстрували значно нижчі рівні INF- $\alpha$  та вище вірусне навантаження, порівняно з обстеженими, які не мали мутацій у гені TLR-3. Неконтрольована вірусна реплікація призвела до порушення експресії прозапальних цитокінів і хемокінів та пошкоджуючого впливу їх на серце [102]. Результати досліджень китайських вчених виявили асоціацію між носійством місенс-мутації Leu412Phe в гені TLR-3 та тяжким перебігом атипової пневмонії з розвитком ГРДС, спричиненої корона вірусом. При цьому найбільше значення генетичний дефект мав у пацієнтів, молодших 40 років, які не мали обтяженого преморбідного фону [250]. У дослідженні Nahum A. та співавт. [235], проведеному з використанням мононуклеарних клітин та фібробластів, отриманих від пацієнтів – носіїв мутації Leu412Phe TLR-3 визначали значно нижчі рівні IFN- $\gamma$ , IFN- $\lambda$ , IFN- $\beta$  та TNF- $\alpha$  у відповідь на стимуляцію лігандами *Candida Albicans*, CMV та синтетичний аналог длРНК poly(I:C), порівняно з клітинами, які мали нормальний генотип. Визначені порушення імунної відповіді в обстежених із поліморфнозміненим генотипом TLR-3 дозволили вченим пояснити сприйнятливість до хронічного перебігу кандидозу та рецидивуючих вірусних інфекцій. У протипагу цим висновкам італійські науковці отримали зовсім інші дані, які свідчать на користь протективної ролі поліморфізму Leu412Phe TLR-3 у захисті проти ВІЛ-1. При обстеженні осіб із високим ризиком інфікування ВІЛ – споживачів ін'єкційних наркотиків, які 100 % були інфіковані HCV, встановлено достовірно вищу частоту носіїв мутантної алелі 412Phe. Для визначення впливу Leu412Phe на реплікацію ВІЛ-1 та експресію цитокінів і хемокінів дослідники інфікували клітини від здорових донорів із поліморфізмом Leu412Phe TLR-3 та

нормальним генотипом. Як виявилось, клітини з мутацією Leu412Phe мали нижчу реплікацію ВІЛ-1 та при цьому достовірно вищі рівні експресії ІЛ-6, ІЛ-10, TNF- $\alpha$ , а також CD69 раннього маркера активації Т-лімфоцитів. Результати цього дослідження показали, що алель 412Phe має імунологічно опосередкований захист від ВІЛ-1 [93].

Таким чином, активне дослідження в останнє десятиріччя Toll-подібних рецепторів уже принесло значні результати не тільки з точки зору фундаментальних знань про організацію протиінфекційного імунітету, але й чисто практичних позицій. Генетична варіабельність TLR, а також TLR-залежних сигнальних шляхів, безумовно, може відігравати важливу роль у розпізнаванні PAMP і змінювати імунну відповідь на інфекцію та вакцинацію. Генетичні дослідження, присвячені вивченню ролі поліморфізму генів TLR при грипі, практично відсутні, що й обумовлює актуальність нашого дослідження.

### **1.3 Обґрунтування обраного напрямку дослідження**

Дослідження останніх років доводять, що сприйнятливість до інфекційних агентів генетично детермінована. Стрімке накопичення знань про генетичну основу патологічних процесів збагачує уявлення про етіологію та патогенез поширених хвороб людини, суттєво підвищує можливості їх діагностики. Однак, генетична схильність до гострих інфекційних хвороб не досить вивчена, а в тих асоціативних дослідженнях, що проведені, коло генів-кандидатів які вивчаються, досить вузьке й обмежене, в основному, генами цитокінів і хемокінів [82]. Стосовно грипу в науковій літературі зустрічаються переважно дослідження, які стосуються вивчення ролі генетичних характеристик збудника і його геному у формуванні сприйнятливості людини до цієї інфекції та клінічного поліморфізму хвороби [49, 77]. На сьогодні дослідження, присвячені вивченню ролі генетичних особливостей самої людини, при грипі є досить обмеженими [98, 246]. Особливої уваги заслуговує вивчення ролі генетичних факторів при ускладненому пневмонією перебігу

грипу в осіб, які не мають загально визнаних факторів ризику. Протягом останніх років гени Toll-подібних рецепторів стали центром активних міжнародних досліджень, а поліморфізм їх розглядається, як можлива патогенетична ланка інфекційної патології.

Найбільший інтерес щодо грипу представляє вивчення TLR-2, TLR-3, TLR-4, оскільки ці рецептори безпосередньо залучені в патогенезі хвороби та ускладнень і розпізнають вірусні структурні білки, ліганди грампозитивних і грамнегативних бактерій (TLR-2 і TLR-4) та длРНК – продукт реплікації і транскрипції РНК-, ДНК-геномних вірусів (TLR-3) [36, 110, 187, 268]. На роль TLR-2 і TLR-4 при грипі вказують дослідження, згідно яких рівень експресії TLR залежить від тяжкості перебігу грипу. Показано, що у хворих із тяжким перебігом грипу, ускладненим пневмонією, рівень експресії TLR-2 і TLR-4 був достовірно вищим, порівняно з легким. Таку закономірність виявлено і по відношенню до рівнів молекул трансдукції сигналу MyD88-залежного шляху. Проте при тяжкому перебігу грипу відмічено зниження концентрації в плазмі крові TNF- $\alpha$ , IL-6, та IL-1 $\beta$ , що свідчить, на думку авторів, про розвиток імуносупресії в пацієнтів у критичному стані, але суперечить даним про підвищені рівні експресії TLR [148].

Таким чином, проведені дослідження дозволяють припустити, що тяжкість перебігу грипу пов'язана з аномальною індукцією вродженого імунітету. К. Shinya та співавт. [249] експериментально дослідили ефективність попередньої стимуляції TLR-2, 3, 4, 7 лігандами до інфікування тварин пандемічними вірусами грипу A/H1N1 та A/H5N1, як способу запобігання утворення патологічно високих рівнів цитокінів та попередження гострого пошкодження легень. Проведені дослідження показали, що вроджена відповідь на інфікування різними вірусами грипу має особливості: так у відповіді на вірус A/H5N1 був задіяний TLR-4 сигнальний шлях, а на вірус іспанського грипу A/H1N1 – TLR-2. Попередня стимуляція TLR-4 та TLR-2 лігандами захищала тварин від летального наслідку, спричиненого високо патогенними штамми вірусу грипу.

У літературі описаний факт розвитку стійкої десенсибілізації TLR протягом 6 тижнів після завершення грипу та ГРВІ. Висловлюється припущення, що з порушенням відповіді TLR пов'язаний розвиток бактеріальних ускладнень, а саме вторинної бактеріальної пневмонії [135, 192, 229]. Так, A. Didierlaurent та співавт. [135] показали в експерименті на тваринах (мишах), яких інфікували вірусом грипу, порушення відповідей на ліганди TLR-4, TLR-2 TLR-5 (LPS, ліпотейхоєву кислоту, флагелін), про що свідчило зниження кількості нейтрофілів у бронхоальвеолярному лаважі. Результатом дисфункції TLR стала неконтрольована бактеріальна реплікація, яка призвела до загибелі 60 % тварин порівняно з 17 % в контрольній групі.

Дані наукової літератури щодо ролі TLR-3 при грипі досить обмежені та суперечливі. Відомо, що вірус грипу А, активуючи експресію TLR-3, може призводити до гострого пошкодження легень. В експериментах на лабораторних тваринах, яким моделювали дефект TLR-3, встановлено, що порушення процесу сигналізації у відповідь на інфікування вірусом грипу, призвело до синтезу значно нижчих рівнів медіаторів запалення (IL-6 та IL-12) та низької кількості CD8<sup>+</sup> та Т-клітин, порівняно з тваринами дикого типу. Саме порушення TLR-3-опосередкованої запальної реакції призвело до зменшення клінічних проявів вірус-індукованої пневмонії та покращило виживання цих тварин [172].

За даними L. Heltzer та співавт. [170] було встановлено, що у пацієнтів із тяжким перебігом грипу, які раніше вважалися здоровими, відмічалось зниження відповідей TLR, поряд із цим визначалися парадоксально високі рівні цитокінів у плазмі крові. Порушення імунної регуляції при тяжкому перебігу грипу автори пов'язують із недостатньою продукцією IFN- $\alpha$ , який має стримувати вірусну реплікацію на початку захворювання, із наступним утворенням надмірних рівнів цитокінів, обумовлених високим вірусним навантаженням. На думку вчених, результатом скомпроментованості відповідей TLR є розвиток бактеріальної суперінфекції, а тяжкість перебігу грипу корелює з рівнем цитокінів. Таким чином, L. Heltzer та співавт. [170] припустили, що у

практично здорових осіб тяжкий перебіг грипу може бути пов'язаний із порушенням функціонування TLR.

На сьогодні відомо, що точкові заміни в геномній ДНК (однонуклеотидний поліморфізм) призводять до змін у структурі TLR, порушуючи тим самим розпізнавання патогенів, функціонування системи вродженого імунітету, та, як наслідок, обумовлюють схильність до захворювання, його тяжкого та ускладненого перебігу [19]. Так доведено асоціацію поліморфізму Phe303Ser TLR-3 із розвитком енцефалопатії при грипі [98]. У дослідженні Esposito S. та співавт. [246] вивчена роль п'яти SNP rs5743708 TLR2, rs5743313 і rs5743315 TLR3, rs4986790 та rs4986791 TLR4 при грипі A/H1N1/2009 у здорових дітей. Встановлено достовірний зв'язок між поліморфізмом TLR-3 rs5743313/CT та підвищеним ризиком пневмонії в дітей, інфікованих пандемічним вірусом грипу A/H1N1/2009.

Наукові дослідження щодо ролі поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при грипі відсутні. Однак, наявність цих мутацій у ділянці гена, яка кодує індукцію трансмембранного сигналу, може бути причиною зниження ефективності механізмів розпізнавання вірусу грипу, призводити до порушення продукції цитокінів, та, як наслідок, сприяти тяжкому перебігу грипу.

**Резюме.** Таким чином, вивчення ролі поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, та Asp299Gly TLR-4 при грипі передбачає дослідження взаємозв'язку алельних варіантів генів-кандидатів із клінічними особливостями перебігу хвороби для розуміння механізмів взаємодії в процесі реалізації спадкової інформації. Визначення генотипів схильності до тяжкого перебігу грипу та розвитку ускладнень дозволить персоналізувати підходи до лікування та профілактики з урахуванням індивідуальних, генетично обумовлених особливостей.



## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Загальна характеристика обстежених хворих та здорових людей

Для реалізації мети і завдань дослідження обстежено 282 особи: 112 хворих на грип та 170 здорових.

Дослідження проводилися на кафедрі інфекційних хвороб з епідеміологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» та клінічній базі кафедри – Полтавській обласній клінічній інфекцій лікарні (ПОКІЛ) протягом 2009-2014 рр. Клінічні спостереження проводилися в діагностичному та реанімаційному відділеннях лікарні. Усі лікувально-діагностичні процедури здійснювали за інформованою згодою хворих.

Діагноз грипу встановлювали згідно МКХ-10 (ВООЗ, 1998) та класифікації інфекційних і паразитарних хвороб (Возіанова Ж. І., 2000; Андрейчин М. А. та співав., 2002) на основі характерних клініко-епідеміологічних даних та підтверджували результатами серологічних (визначення специфічних антитіл у парних сироватках крові в РГГА з грипозними діагностикумами) та молекулярно-біологічних (виявлення РНК вірусу грипу в змивах із носових ходів у полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) досліджень.

Діагноз пневмонії верифікували на підставі рекомендацій Європейського респіраторного товариства (ERS, 2011) та Наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія» [56, 144]. Оцінку тяжкості пневмонії здійснювали за полегшеним варіантом шкали SMART-COP (SMART-CO) (Systolic blood pressure, multilobar chest radiography involvement, respiratory rate, tachycardia, confusion, and oxxygenation) із вилученням альбуміну та рН артеріальної крові [260]. Про тяжкий перебіг пневмонії свідчили сума балів по шкалі SMART-CO  $\geq 3$  та наявність у хворого не менше двох «малих» або одного «великого» критерію. Для діагностики та оцінки тяжкості органно-системної

дисфункції використовували шкалу SOFA (Sepsis-related Organ failure Assesement), визначаючи наступні оціночні критерії: рівень загального білірубіну та креатиніну в крові, кількість тромбоцитів, рівень середнього артеріального тиску (АТ), функціональний стан центральної нервової системи (по шкалі Глазго) [237]. Діагностику ГРДС у пацієнтів досліджуваних груп здійснювали за сукупністю результатів клінічних даних, лабораторних та рентгенологічних досліджень відповідно до Берлінських критеріїв ГРДС 2012 р. [94].

Усім хворим на грип та грип-асоційовану пневмонію проводили лікування відповідно до протоколу та чинних наказів МОЗ (Наказ МОЗ України № 813 від 07.11.09 р. «Про затвердження Алгоритму надання медичної допомоги хворим на пандемічний грип, викликаний вірусом (А Н1/Н1 Каліфорнія)», Наказ від 13.11.2009 р. № 832 «Про внесення змін до наказу МОЗ від 20.05.2009 р. №189-Адм «Про затвердження Протоколу діагностики та лікування нового грипу А Н1/Н1 Каліфорнія) у дорослих», Наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія») [56, 57, 59].

Клінічний перебіг грипу та грип-асоційованої пневмонії вивчали в 112 пацієнтів, які не мали загальновизнаних факторів розвитку ускладнень (вагітність, ожиріння, цукровий діабет, імуносупресивні розлади, хронічні хвороби легень, серця, нирок, печінки та ін.), із них:

- 63 з неускладненим перебігом грипу (32 – з поліморфнозміненими генотипами, 31 – з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4;
- 49 з грип-асоційованою пневмонією (35 – з мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, 14 – з нормальним розподілом алелей TLR).

Розподіл хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію за статтю та віком наведений в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

## Розподіл хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію за віком та статтю, абс. число (%)

Групи хворих  Вік	Грип неускладнений (n=63)				Грип-асоційована пневмонія (n=49)			
	Нормальний розподіл алелей TLR		Поліморфнозмінені генотипи TLR		Нормальний розподіл алелей TLR		Поліморфнозмінені генотипи TLR	
	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки
18-24	9 (56,2)	9 (60,0)	8 (44,4)	9 (64,3)	2 (40,0)	1 (11,1)	2 (11,8)	1 (5,5)
25-34	2 (12,5)	1 (6,7)	2 (11,1)	2 (14,3)	-	4 (44,4)	4 (23,5)	4 (22,2)
35-44	3 (18,7)	-	2 (11,1)	-	-	1 (11,1)	5 (29,4)	7 (38,9)
45-54	1 (6,3)	3(20,0)	3 (16,7)	2 (14,3)	2 (40,0)	2 (22,2)	4 (23,5)	4 (22,2)
55-64	1(6,3)	2 (13,3)	3 (16,7)	1 (7,1)	1 (20,0)	1 (11,1)	2 (11,8)	2 (11,1)
Всього	16 (25,4)	15 (23,8)	18 (28,6)	14 (22,2)	5 (10,2)	9 (18,4)	17 (34,7)	18 (36,7)

Як видно з табл. 2.1, хворі на грип та грип-асоційовану пневмонію із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 не відрізнялися за статтю, віком, і в обох групах переважали особи молодого та середнього віку: серед хворих на грип із мутантними генотипами – 71,9 %, з нормальним розподілом алелей TLR – 77,4 %, з грип-асоційованою пневмонією – 65,7 % і 57,1 % відповідно.

Для визначення ефективності специфічної імунопрофілактики грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3 та Asp299Gly TLR-4 було провакциновано 46 осіб із мутантними та 20 із нормальними генотипами досліджуваних TLR, які раніше не були щеплені протигрипозною вакциною. Імунізацію проводили за стандартною методикою – вакциною Інфлювак (Solvay Pharmaceuticals, Нідерланди), яка містила актуальні штами для епідсезонів 2011/2012, 2012/2013, 2013/2014 років. Вакцинацію проводили після огляду лікаря. Імунну відповідь на вакцинацію оцінювали в РГГА на основі дослідження парних сироваток крові, зібраних до імунізації та через 28 днів після введення вакцини.

Поширеність поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Asp299Gly TLR-4 та Leu412Phe TLR-3 серед хворих на грип досліджували, аналізуючи результати генетичного обстеження 112 пацієнтів (жінок – 55 (49,1 %), чоловіків – 57 (50,9 %), віком від 18 до 64 років, середній вік –  $(34,40 \pm 1,38)$  року. Групу популяційного контролю для вивчення поширеності поліморфізму Arg753Gln гену TLR-2 і Asp299Gly TLR-4 склали 90 осіб із бази генетичних зразків Науково-дослідного інституту генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», для Leu412Phe TLR-3 – обстежено 80 практично здорових жителів Полтавської області. Серед них жінок – 97 (57,1 %), чоловіків – 73 (42,9 %), вік від 18 до 59 років (середній вік –  $(23,41 \pm 0,64)$  року).

Поглиблене клініко-анамнестичне обстеження та вивчення зв'язку поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 із

запальними захворюваннями дихальних шляхів проводили у 98 осіб (жінок – 55, чоловіків – 43) віком від 18 до 59, розподілених за генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. У кожного обстеженого аналізували анамнестичні дані, які отримували при опитуванні, та із даних амбулаторної карти пацієнта. Особливо деталізувались частота ГРВІ та запальних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів протягом року, тяжкість перебігу та розвиток ускладнень.

## **2.2 Методи дослідження, використані в роботі**

### **2.2.1 Загальноклінічні, біохімічні, бактеріологічні, серологічні та інструментальні методи обстеження**

Комплексне загальноклінічне та лабораторне обстеження хворих на грип і грип-асоційовану пневмонію складалося з ретельного збору анамнезу, аналізу даних амбулаторних карт, клінічного огляду, загального аналізу крові та сечі, біохімічного дослідження крові (визначення загального білірубіну та його фракцій, аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ та АсАТ), тимолової проби, креатиніну, сечовини, залишкового азоту), загального аналізу і бактеріологічного дослідження харкотиння, додаткових обстежень проведених згідно з діагностованою патологією із залученням для консультацій відповідних фахівців. Біохімічні дослідження виконані на автоматичному біохімічному аналізаторі GBG STAT FAX-1904 (Японія) реактивами компанії Human (Німеччина), рентгенографія органів грудної клітини – апаратом Рентген-30 (Білорусія), ультразвукове дослідження органів черевної порожнини на пристрої ультразвуковому скануючому “ULTIMA RA Expert“ (Україна). Пацієнтам із грип-асоційованою пневмонією визначали ступінь насичення крові киснем за допомогою пульсоксиметра «Ютасокси-200» (Україна).

Серологічні дослідження для верифікації діагнозу грипу та визначення ефективності вакцинації виконані в вірусологічній лабораторії ДУ «Полтавський обласний лабораторний центр Держсанепідслужби України».

Парні сироватки, зібрані у хворих на грип та вакцинованих, досліджували за допомогою стандартної методики в РГГА. Постановка РГГА складалася з наступних етапів: підготовка сироваток, визначення гемаглютинуючого титру в РГГА та робочої дози вірусу, проведення самої реакції. Для видалення неспецифічних інгібіторів сироватку обробляли RDE за методом, описаним в інструкції до препарату. В якості робочої дози антигену використовували дозу 4 гемаглютинуючі одиниці, приготовлену з діагностикумів «Диагностикумы гриппозные для реакции торможения гемагглютинации сухие» ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» (Россия) трьох штамів, які відповідають вакцинним A/H3N2 (А/Викторія /361/2011), A/H1N1 pdm 09 (А/Каліфорнія/07/09), і В (В/Санкт-Петербург/40/09). Сироватки титрували, починаючи з розведення 1:10 до 1:1280. Титром сироватки вважали її найбільше розведення, при якому спостерігається повна інгібіція аглютинації еритроцитів у результаті взаємодії вірусу зі специфічними антитілами. Діагностично достовірним вважалося не менше ніж 4-кратне збільшення титрів антитіл у сироватці, зібраній через 28 днів після вакцинації порівняно з передвакцинальною. При використанні РГГА для верифікації діагнозу грипу проводили порівняння титрів антитіл у сироватці, зібраній у реконвалесценції та гострому періоді хвороби.

### **2.2.2 Генетичні методи обстеження**

Визначення РНК вірусу грипу в назофарингеальних мазках проводили методом ПЛР із використанням набору реагентів «Амплиценс Influenza virus A/B-FL» (Россия).

Генетичне дослідження з визначення поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 проведено на базі НДІ

Генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Матеріалом дослідження була периферична венозна кров, забір якої проводився із кубітальної вени в стерильні вакутайнери зі стабілізатором (ЕДТА) та наступним внесенням її в епіндорфи з реактивом «ДНК-експрес». Геномну ДНК виділяли за допомогою «Комплекту для виділення ДНК/РНК з сироватки або плазми крові» (ЛитТех, Россия).

Поліморфну ділянку Arg753Gln гену TLR-2 та Asp299Gly TLR-4 ампліфікували за допомогою ПЛР із використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Праймери для ампліфікації поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2 та Asp299Gly TLR-4**

Ген, поліморфізм	Послідовність праймерів
TLR4, Asp299Gly	F: 5'-GATTAGCATACTTAGACTACTACCTCCATG-3' R: 5'-GATCAACTTCTGAAAAAGCATTCCCAC-3'
TLR2, Arg753Gln	F: 5'-GAGTGGTGCAAGTATGAACTGGA-3' R: 5'-TCCCAACTAGACAAAGACTGGTCT-3'

Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технологія», Россия). Суміш для ПЛР об'ємом 25 мкл містила 2,5 мкл 10-х буферу для ампліфікації; 2 мМ хлориду магнію; по 0,2 мМ кожного dNTP; по 66 нг специфічних праймерів; 2,5 од. акт. Таq-ДНК-полімерази («СибЭнзим», Россия); 20-50 нг геномної ДНК. У пробірки нашаровували 25 мкл мінерального масла. Для ідентифікації алелей гену TLR4 застосовували рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції Bsp19 (СибЭнзим, Россия) при температурі 37°C. У результаті рестрикції були отримані фрагменти розміром 263 bp та 222 bp.

Поліморфну ділянку гену TLR2 ідентифікували за допомогою рестрикційного аналізу з використанням ендонуклеази рестрикції Pst I (НПО

«СибЭнзим», Россия). Програми ампліфікації для генів TLR4 та TLR2 представлені в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

**Програми ампліфікації для генів TLR4 та TLR2**

Ген, поліморфізм	Програма ампліфікації
TLR4	1 цикл: 95°C – 1 хвилина; 32 цикли: 95°C – 30 секунд; 58°C – 1 хвилина; 72°C – 1 хвилина. 1 цикл: 72°C – 5 хвилин.
TLR2	1 цикл: 94 °C – 5 хвилин; 32 цикли: 94°C – 30 секунд; 62°C – 1 хвилина; 72°C – 1 хвилина. 1 цикл: 72°C – 3 хвилини.

Продукти розщеплення поліморфної ділянки генів TLR4 та TLR2 виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі в 1 x TBE (50 мМ трис-НЗВОЗ та 2 мМ ЕДТА, РН 8.0) (протягом 2 год. при напрузі 2V на 1 см. гелю). У ролі маркера молекулярної ваги ДНК використовували рBR322/BsuRI. Гелі фарбували етидіумом бромідом із подальшою візуалізацією результатів в УФ-світлі.

Для визначення алелей поліморфної ділянки Leu412Phe гена TLR-3 геному ДНК виділяли з лейкоцитів периферичної крові, використовуючи набір реагенту «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (НПФ «ЛитТех», Россия).

Генотипування поліморфної ділянки Leu412Phe гена TLR-3 виконували шляхом проведення ампліфікації методом ПЛР на ампліфікаторі «Терцик» („ДНК-Технология”, Россия). Проводили паралельно дві реакції ампліфікації з двома парами алель-специфічних олігонуклеотидних праймерів (НПФ «ЛитТех», Россия).



Програма ампліфікації для гену TLR-3 включала початкову денатурацію при 93°C впродовж 60 секунд, 35 циклів: 93<sup>0</sup> 10 секунд, відпал при специфічній для кожної пари праймерів температурі 64°C, 10 секунд, елонгацію ланцюга при 72°C, 20 секунд, завершувала програму фінальна елонгація при 72°C, 60 секунд. Отримували три типи продуктів ампліфікації: гомозигота за алеллю 1, гетерозигота, гомозигота за алеллю 2: алель 1 – алель, що вказана до позиції заміни, алель-2 – алель, що вказана після позиції заміни.

Електрофоретичне розділення ампліконів проводили методом горизонтального електрофорезу в напрямленні від катода (-) до анода (+) в 3% агарозному гелі при напрузі 10-15 V на 1 см гелю. Для електрофорезу використовували 1x трис-ацетатний (ТАЕ) буфер, що готували з 50x ТАЕ буфера (0,04М трис-ацетат, 0,002М ЕДТА, рН=8,3). Гелі фарбували 1% розчином етидіуму броміду. Фрагменти ДНК, що аналізувалися, проявлялися у вигляді червоних смуг при опроміненні УФ-світлом із довжиною хвилі 310 нм.

### 2.3 Методи статистичної обробки даних

Математичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми «STATISTICA for Windows7.0» (StatSoft Inc, США) та електронних таблиць MS Excel. Розподіл генотипів визначали, застосовуючи закон Харді-Вайнберга – закон популяційної генетики, який дозволяє оцінити популяційний ризик генетично-детермінованих захворювань, оскільки кожна популяція має свій набір алелефонду та, відповідно, різну частоту несприятливих алелей.

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1, \text{ де}$$

$p^2$  – доля гомозигот по одному із алелей;

$p$  – частота даного алеля;

$q^2$  – доля гомозигот по альтернативному алелю;

$q$  – частота відповідного алеля;  $2pq$  – доля гетерозигот.

Очікувану гетерозиготність ( $F_{st}$ ) у нашій вибірці визначали за формулою:

$$F_{st} = (H_t - H_s) / H_t \cdot H_s, \text{ де}$$

$H_t$  – очікувана гетерозиготність у всій популяції,

$H_s$  – фактична гетерозиготність у вибірці осіб.

Розподіл досліджуваних поліморфних генотипів перевіряли на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга за допомогою критерію  $\chi^2$ . Порівняння частот алелей та генотипів між групами, які досліджувались, проводили шляхом аналізу таблиць спряження 3x2 за допомогою точного тесту Фішера. Для порівняння частот варіантів у незв'язаних групах вираховували відношення шансів (OR) із визначенням 95% довірливого інтервалу (CI). Відносний ризик розвитку захворювання та ускладнення оцінювали за допомогою показника OR. Значення OR та 95% довірливого інтервалу вираховували за допомогою програми Odds ratio calculator ([http://www.medcalc.org/calc/odds\\_ratio.php](http://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php)). Показник OR=1 розглядали як відсутність асоціації; OR>1 – як позитивну асоціацію («схильність»), OR<1 – як негативну асоціацію алеля або генотипу із захворюванням.

Отримані в процесі обстеження пацієнтів кількісні показники обробляли методами математичної статистики з розрахунком середніх вибірових значень ( $M$ ), дисперсії ( $\sigma$ ) та помилок середніх значень ( $m$ ) у групах обстежених осіб.

Для аналізу взаємозв'язків якісних параметрів, які отримані в результаті дослідження визначали коефіцієнт контингенції Пірсона ( $K_k$ ,  $\phi$ ):

$$K_k = \frac{ad - bc}{\sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}}, \text{ де}$$

$a, b, c, d$  – частоти відповідних комбінацій ознак

Зв'язок вважали значущим при  $K_k \geq 0,3$  [14, 54]. Для якісної оцінки сили зв'язку при використанні  $K_k$  керувалися шкалою Чеддока (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

## Шкала Чеддока

Коефіцієнт	0,1–0,3	0,3–0,5	0,5–0,7	0,7–0,9	0,9–0,99
Характеристика залежності	Слабка	Помірна	Помітна	Висока	Дуже висока

Вірогідність відмінностей кількісних результатів для різних груп обстежених пацієнтів визначали за допомогою t-критерію надійності Стьюдента та якісних – за допомогою точного тесту Фішера. При порівнянні частот бінарних ознак у двох пов'язаних групах використовували критерій Мак-Немара. Відмінності вважали вірогідними для всіх видів аналізу при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях імовірності помилки  $p < 0,05$ , яку оцінювали за таблицями критичних чисел з урахуванням розміру експериментальних груп.

**Резюме.** Було обстежено 282 особи, з них 112 хворих на грип та 170 здорових. Встановлено, що більшу частину пацієнтів склали особи молодого та середнього віку. Для виконання поставлених завдань було використано комплексне клініко-лабораторне, бактеріологічне, серологічне, генетичне дослідження та статистичні методи.

**РОЗДІЛ 3**

**ПОШИРЕНІСТЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2,  
LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4 СЕРЕД ХВОРИХ НА ГРИП ТА  
ГРИП-АСОЦІЙОВАНУ ПНЕВМОНІЮ**

Для вивчення поширеності поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, та Asp299Gly TLR-4 серед хворих на грип було обстежено 112 осіб, із них 63 з неускладненим перебігом захворювання та 49 з грип-асоційованою пневмонією. Серед них жінок – 55 (49,1 %), чоловіків – 57 (50,9 %), віком від 18 до 64 років. Групу популяційного контролю для вивчення поширеності поліморфізму Arg753Gln гену TLR-2 і Asp299Gly TLR-4 склали 90, для Leu412Phe TLR-3 80 практично здорових жителів Полтавської області (жінок – 97 (57,1 %), чоловіків – 73 (42,9 %), вік від 18 до 59 років). Розподіл хворих і здорових за віком та статтю представлений у таблиці 3.1.

*Таблиця 3.1*

**Розподіл обстежених за віком та статтю, абс. число (%)**

Вік, роки	Хворі на грип (n=112)				Здорові (n=170)			
	чоловіки		жінки		чоловіки		жінки	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
18-24	22	38,6	19	34,5	64	87,7	67	69,1
25-34	9	15,8	10	18,2	5	6,8	21	21,6
35-44	10	17,5	9	16,4	2	2,7	3	3,1
45-54	10	17,5	10	18,2	2	2,7	4	4,1
55-64	6	10,5	7	12,7	-	-	2	2,1
всього	57	50,9	55	49,1	73	42,9	97	57,1

Як видно з табл. 3.1, в обох групах переважали особи молодого та середнього віку (70,5 % і 92,3 % відповідно).

У результаті молекулярно-генетичного обстеження 112 хворих на грип отримано наступні генотипи досліджуваних TLR: TLR-2 – Gln753Gln, Arg753Gln; TLR-3 – Leu412Leu, Leu412Phe, Phe412Phe; TLR-4 – Asp299Asp, Asp299Gly. Розподіл генотипів відповідав очікуваному за рівновагою Харді-Вайнберга в групах хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових для всіх досліджуваних поліморфних локусів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Порівняння частот генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 у хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових із розрахованими за рівновагою Харді-Вайнберга**

<b>Leu412Phe TLR-3</b>					
Група обстежених	Частота генотипу	Генотип			$\chi^2$ d.f.=1
		Leu/Leu	Leu/Phe	Phe/Phe	
1	2	3	4	5	6
Грип не ускладнений n=63	N.O. %	55,6	39,7	4,8	0,24 p>0,05
	N.E. %	56,8	37,1	6,1	
Грип-асоційована пневмонія n=49	N.O. %	32,7	49,0	18,4	0,0 p>0,05
	N.E. %	32,7	49,0	18,4	
Здорові n=80	N.O. %	45,0	50,0	5,0	1,42 p>0,05
	N.E. %	49,0	42,0	9,0	
<b>Asp299Gly TLR-4</b>					
		Asp/Asp	Asp/Gly	Gly/Gly	
Грип не ускладнений n=63	N.O. %	87,3	12,7	0,0	0,29 p>0,05
	N.E. %	87,7	11,9	0,4	

Продовження табл. 3.2

1	2	3	4	5	6
Грип-асоційована пневмонія n=49	N.O. %	85,7	14,3	0,0	0,29 p>0,05
	N.E. %	86,2	13,3	0,5	
Здорові n=90	N.O. %	96,7	3,3	0,0	0,03 p>0,05
	N.E. %	96,7	3,3	0,0	
<b>Arg753Gln TLR-2</b>					
		Gln/Gln	Arg/Gln	Arg/Arg	
Грип не ускладнений n=63	N.O. %	95,2	4,8	0,0	0,04 p>0,05
	N.E. %	95,3	4,6	0,1	
Грип-асоційована пневмонія n=49	N.O. %	93,9	6,1	0,0	0,05 p>0,05
	N.E. %	94,0	5,9	0,1	
Здорові n=90	N.O. %	96,7	3,3	0,0	0,03 p>0,05
	N.E. %	96,7	3,3	0,0	

Примітка. N.O. – частоти генотипів, які спостерігаються; N.E. – очікувані частоти генотипів; критерій  $\chi^2$ , використаний для оцінки відповідності розподілу генотипів, який спостерігається очікуваному, виходячи з рівноваги Харді-Вайнберга.

При аналізі розподілу частот генотипів та алелей встановлено, що у хворих на грип поліморфнозмінені генотипи TLR-3 TLR-4, а також їх комбінації з TLR-2 виявлялися частіше, в порівнянні з практично здоровими. При дослідженні поліморфного локусу Leu412Phe TLR-3 між групами обстежених виявлено достовірні відмінності за частотою генотипів та алелей (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Leu412Phe гену  
TLR-3 серед хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових,  
абс. число (%)**

Генотип та алелі	Здорові n=80	Групи хворих		F p ≤	OR (95 % CI)
		грип неусклад нений n=63	грип- асоційована пневмонія n=49		
Leu/Leu	36 (45,0)	35 (55,5)	16 (32,7)	0,2403 a 0,1973 b 0,0216 d	1,53 (0,79-2,97) a 0,59 (0,28-1,24) b 0,39 (0,18-0,84) d
Leu/Phe	40 (50,0)	25 (39,7)	24 (48,9)	0,2399 a 0,9999 b 0,3437 d	0,66 (0,34-1,28) a 0,96 (0,47-1,95) b 1,46 (0,69-3,1) d
Phe/Phe	4 (5,0)	3 (4,8)	9 (18,4)	1,00 a 0,0309 b 0,0299 d	0,95 (0,2-4,41) a 4,28 (1,24-14,75) b 4,5 (1,15-17,65) d
Leu	112 (70,0)	95 (75,4)	56 (57,1)	0,3519 a 0,0434 b 0,0042 d	1,31 (0,77-2,23) a 0,57 (0,34-0,96) b 0,44 (0,25-0,77) d
Phe	48 (30,0)	31 (24,6)	42 (42,9)	0,3519 a 0,0434 b 0,0042 d	0,76 (0,45-1,29) a 1,75 (1,04-2,95) b 2,3 (1,3-4,06) d

Примітка: тут і в табл. 3.3, 3.4, 3.5 p – рівень значимості, отриманий за точним тестом Фішера для відмінностей за частотами генотипів і алелей між: а – здоровими і хворими на грип неускладнений; b – здоровими і хворими на грип-асоційовану пневмонію; d – хворими з неускладненим перебігом грипу та на грип-асоційовану пневмонію.

Як видно з наведених в табл. 3.3, даних мутантний гомозиготний генотип Phe/Phe виявляли достовірно частіше у хворих на грип-асоційовану пневмонію (18,4 %), у порівнянні зі здоровими – у 3,7 (5,0 %,  $p < 0,03$ ) та хворими на грип – у 3,8 (4,8 %,  $p < 0,02$ ) рази. При порівнянні частот генотипів Leu/Leu та Leu/Phe статистично значущих відмінностей між групами обстежених виявлено не було. Мутантний алель 412Phe достовірно частіше зустрічався у хворих на грип-асоційовану пневмонію (42,9 %), у порівнянні зі здоровими (30,0 %,  $p < 0,04$ ) та хворими на грип (24,6 %,  $p < 0,004$ ). Згідно з розрахованим показником відношення шансів присутність у геномі хворих на грип мутантної алелі 412Phe та гомозиготного генотипу Phe/Phe у 2,3 та 4,5 рази підвищує ризик розвитку грип-асоційованої пневмонії (OR=2,3; 95 % CI:1,3-4,06 і OR=4,5; 95 % CI:1,15-17,65, відповідно).

При порівняльному аналізі частот генотипів та алелей поліморфізму Asp299Gly гена TLR-4 встановлено статистично значущі відмінності між досліджуваними групами хворих та здорових (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Asp299Gly гену TLR-4 серед хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових, абс. число (%)**

Генотип та алелі	Здорові n=90	Групи хворих		p (F)	OR (95 % CI)
		грип неусклад нений n=63	грип- асоційована пневмонія n=49		
1	2	3	4	5	6
Asp/Asp	87 (96,7)	55 (87,3)	42 (85,7)	0,0516 a 0,0334 b 0,9999 d	0,24 (0,06-0,93) a 0,21 (0,05-0,84) b 0,87 (0,29-2,6) d



Продовження табл. 3.4

1	2	3	4	5	6
Asp/Gly	3 (3,3)	8 (12,7)	7 (14,3)	0,0516 a	4,22 (1,07-16,59) a
				0,0324 b	4,95 (1,22-20,13) b
				0,9999 d	1,15 (0,38-3,41) d
Gly/Gly	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0	0
Asp	177 (98,3)	118 (93,6)	91 (92,9)	0,0561 a	0,25 (0,06-0,96) a
				0,0367 b	0,22 (0,06-0,87) b
				0,9999 d	0,88 (0,31-2,52) d
Gly	3 (1,7)	8 (6,4)	7 (7,1)	0,0561 a	4 (1,04-15,39) a
				0,0367 b	4,54 (1,15-17,97) b
				0,9999 d	1,13 (0,4-3,24) d

Так, гетерозиготний генотип Asp/Gly виявляли достовірно частіше у хворих на грип (12,7 %,  $p < 0,05$ ) та грип-асоційовану пневмонію (14,3 %,  $p < 0,03$ ), у порівнянні зі здоровими (3,3 %). Частота алеля 299Gly була вищою серед хворих на грип у 3,8 разу (6,4 %,  $p < 0,05$ ), грип-асоційовану пневмонію у 4,3 разу (7,1 %,  $p < 0,03$ ), у порівнянні з популяційним контролем (1,7 %). При цьому достовірної різниці між досліджуваними групами хворих виявлено не було, що свідчить про асоціацію алелю 299Gly із розвитком грипу. Згідно з показником відношення шансів алель 299Gly гена TLR-4 у 4,0 рази (OR=4,0; 95 % CI:1,04-15,39) підвищує ризик розвитку грипу, в порівнянні з особами з генотипом Asp299Asp.

При дослідженні однонуклеотидного поліморфізму Arg753Gln гену TLR-2 в усіх групах обстежених статистично значущих відмінностей в розподілі генотипів та алелей не виявлено (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Arg753Gln гену  
TLR-2 серед хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових,  
абс. число (%)**

Генотип та алелі	Здорові n=90	Групи хворих		p (F)	OR (95 % CI)
		грип неусклад нений n=63	грип- асоційована пневмонія n=49		
Gln/Gln	87 (96,7)	60 (95,2)	46 (93,9)	0,6906 a 0,6653 b 0,9999 d	0,69 (0,13-3,53) a 0,53 (0,1-2,73) b 0,77 (0,15-3,98) d
Arg/Gln	3 (3,3)	3 (4,8)	3 (6,1)	0,6906 a 0,6653 b 0,9999 d	1,45 (0,28-7,43) a 1,89 (0,37-9,75) b 1,3 (0,25-6,76) d
Arg/Arg	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0	0
Gln	177 (98,3)	123 (97,6)	95 (96,9)	0,6931 a 0,4286 b 1,00 d	0,69 (0,14-3,5) a 0,54 (0,11-2,71) b 0,77 (0,15-3,91) d
Arg	3 (1,7)	3 (2,4)	3 (3,1)	0,6931 a 0,4286 b 1,00 d	1,44 (0,29-7,25) a 1,86 (0,37-9,41) b 1,29 (0,26-6,56) d

Відомо, що в основі спадкової схильності лежить специфічна комбінація алелей декількох генів, які впливають на розвиток або модифікацію клінічних проявів захворювання. Для оцінки комбінованого вкладу маркерів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 в розвиток грипу та грип-асоційованої пневмонії було проведено порівняльний аналіз поширеності гаплотипів у групах хворих та здорових. У результаті

проведеного дослідження встановлено, що комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 не виявлялися у здорових, а реєструвалися лише у хворих із неускладненим перебігом грипу (11,1 %,  $p < 0,01$ ) і грип-асоційованою пневмонією (14,3 %,  $p < 0,003$ ). Достовірних відмінностей у частотах гаплотипів між групою хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію виявлено нами не було ( $p = 0,77$ ;  $OR = 1,33$ ; 95 %  $CI: 0,43-4,09$ ).

Визначені комбінації мутантних генотипів були представлені п'ятьма варіантами, при цьому до складу 4 із них входили мутантні генотипи TLR-3 (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових абс. число, %**

Поліморфізм	Комбінації генотипів	Здорові n=56		Групи хворих				p	OR (95 % CI)
				грип неускладнений n=63		Грип-асоційована на пневмонія n=49			
		абс.	%	абс.	%	абс.	%		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Leu412Phe TLR-3: Asp299Gly TLR-4	Leu/Phe  Asp/Gly	0	0	4	6,3	5	10,2	0,121 a 0,02 b 0,505 d	8,01 (0,44-145,66) a 12,29 (0,69-216,9) b 1,57 (0,44-5,56) d
Leu412Phe TLR-3: Arg753Gln TLR-2	Phe /Phe  Arg/Gln	0	0	1	1,6	1	2,0	p>0,05	-

Продовження табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Asp299Gly TLR-4: Arg753Gln TLR-2	Asp/Gly  Arg/Gln	0	0	1	1,6	0	0	p>0,05	-
Leu412Phe TLR-3: Arg753Gln TLR-2	Leu/Phe  Arg/Gln	0	0	1	1,6	0	0	p>0,05	-
Leu412Phe TLR-3: Asp299Gly TLR-4: Arg753Gln TLR-2	Leu/Phe  Asp/Gly  Arg/Gln	0	0	0	0	1	2,0	p>0,05	-

Найбільш поширеним, як серед хворих на грип, так і грип-асоційовану пневмонію виявилось поєднання гетерозиготного генотипу Leu/Phe TLR-3 з Asp/Gly TLR-4 (6,3 % та 10,2 % відповідно). Асоціації даного гаплотипу з розвитком грипу та грип-асоційованої пневмонії встановлено не було (p=0,12; OR=8,01; 95 % CI:0,44-145,66 та p=0,5; OR=1,57; 95 % CI:0,44-5,56, відповідно). В одному випадку у хворого на грип-асоційовану пневмонію комбінація мутантних генотипів поєднувала поліморфнозмінені генотипи TLR-2, TLR-3 і TLR-4. Статистичну обробку даних, отриманих з інших комбінацій мутантних генотипів досліджуваних TLR, провести не дозволила мала чисельність осіб – носіїв мутацій у групах.

Враховуючи дані про те, що комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3 і TLR-4 визначалися лише у хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію, а також входження поліморфнозмінених генотипів TLR-3 до

складу більшості поєднань, представилося за доцільне дослідити їх сукупний вплив на ризик розвитку грипу та грип-асоційованої пневмонії. За результатами розрахунку показника відношення шансів встановлено, що присутність у геномі мутантних генотипів TLR-3 у поєднанні з TLR-2 і TLR-4 у 15,0 разів (OR=15,0; 95 % CI:1,83-286,93) підвищує ризик розвитку грипу в носіїв даних мутацій. При проведенні статистичного аналізу в групах хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію асоціацію комбінацій мутантних генотипів досліджуваних TLR з розвитком пневмонії не виявлено (OR=1,33; 95 % CI:0,43-4,09).

Аналізуючи результати молекулярно-генетичного обстеження пацієнтів із летальним наслідком, встановлено, що у 80,0 % із них було виявлено поліморфнозміннені генотипи TLR-3, які у 40,0 % поєднувалися з поліморфізмом генів Asp299Gly TLR-4 та Arg753Gln TLR-2. Частота гетеро- і гомозиготного за мутантною алеллю генотипів (Leu/Phe, Phe/Phe) TLR-3 склала 60,0 % та 20,0 %, що відповідало частоті виявлення у хворих із тяжким перебігом пневмонії. А от частота реєстрації мутантного генотипу Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 у померлих виявилася в 2,7 і 4,1 разу більшою, ніж при тяжкому перебігу і склала 40,0 % та 20,0 % відповідно. Проте вірогідної різниці при порівнянні частот алелей і генотипів досліджуваних генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих із летальним наслідком та середньотяжким і тяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії не виявлено.

**Резюме.** За результатами проведеного дослідження встановлено, що мутантний алель 412Phe достовірно частіше зустрічається у хворих на грип-асоційовану пневмонію (42,9 %), у порівнянні з неускладненим перебігом грипу (24,6 %,  $p < 0,004$ ) та здоровими (30,0 %,  $p < 0,04$ ). Виявлено достовірно вищу частоту алелі 299Gly TLR-4 та комбінацій мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 серед хворих на грип (6,3 %,  $p < 0,05$  та 11,1 %,  $p < 0,01$  відповідно) та грип-асоційовану пневмонію (7,1 %,  $p < 0,03$  та 14,3 %,  $p < 0,003$  відповідно), у порівнянні з популяційним контролем (1,7 % та 0,0 %).

Наявність у геномі поліморфнозмінених генотипів TLR-3 TLR-4 та їхніх комбінацій із TLR-2 дозволяє прогнозувати ризик розвитку грипу та грип-асоційованої пневмонії. Маркерами підвищеного ризику розвитку грипу є алель 299Gly і генотип Asp/Gly TLR-4 (OR=4,0 та OR=4,22 відповідно) та поєднання мутантних генотипів Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 з Asp/Gly TLR-4 і Arg/Gln TLR-2 (OR=15,0); грип-асоційованої пневмонії – алель 412Phe і генотип Phe/Phe TLR-3 (OR=2,3 та OR=4,5 відповідно).

Основні положення розділу знайшли відображення в опублікованих працях автора:

1 Прийменко Н. О. Поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих з ускладненим перебігом грипу та визначення його впливу на перебіг грип-асоційованої пневмонії / Н. О. Прийменко // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2013. – Т. 13, № 3(43). – С. 233-238.

2 Дубинская Г. М. Роль полиморфизма генов TLR-2, TLR-3, TLR-4 при гриппе / Г. М. Дубинская, Н. О. Прийменко, И. П. Кайдашев, В. И. Похилько, К. Ф. Чуб // *Gergian medical news.* – 2014. – № 7-8(232-233). – С.51-55.

3 Дубинська Г. М. Поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих з ускладненим перебігом грипу в Полтавській області // Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, В. Ф. Шаповал, О. А. Шликова, С. І. Ковтун // Епідеміологічні та клінічні аспекти профілактики, діагностики та лікування розповсюджених інфекційних хвороб сучасності: мат. наук.-практ. конф., 26-27 травня 2012 р. – Харків, 2012. – С. 103-104.

**РОЗДІЛ 4**  
**РЕЗУЛЬТАТИ ПОГЛИБЛЕНОГО КЛІНІКО-АНАМНЕСТИЧНОГО**  
**ОБСТЕЖЕННЯ ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN**  
**TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4**

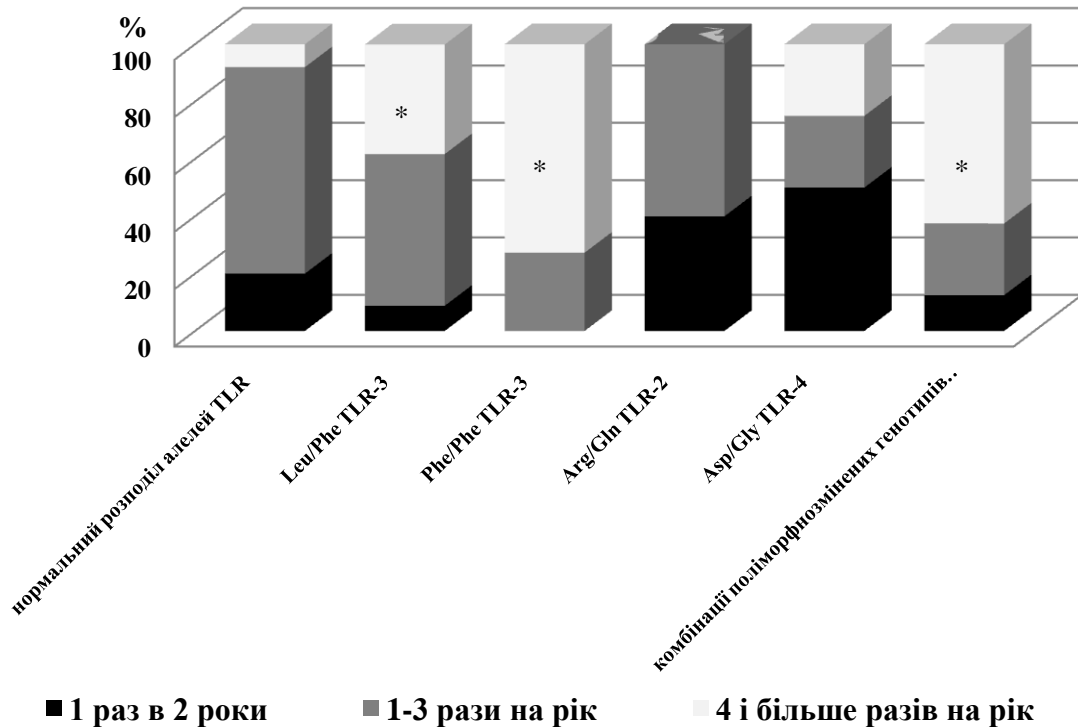
Зв'язок поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, та Asp299Gly TLR-4 із запальними захворюваннями верхніх та нижніх дихальних шляхів вивчали у 98 осіб віком від 18 до 59 років (середній –  $32,47 \pm 1,25$ ), жінок – 55 (56,1 %), чоловіків – 43 (43,9 %). За генотипом вони розподілилися наступним чином: із Leu/Phe TLR-3 – 34, Phe/Phe TLR-3 – 11, Arg/Gln TLR-2 – 5, Asp/Gly TLR-4 – 4, комбінаціями поліморфнозмінених генотипів досліджуваних TLR – 8 осіб. Отримані результати порівнювали з даними 36 здорових із нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 рівноцінними за статтю і віком.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до ГРВІ з частими епізодами протягом року, які ускладнюються запальними процесами нижніх дихальних шляхів, а також до хронічних запальних захворювань верхніх дихальних шляхів, простого герпесу з рецидивами 4 і більше протягом року.

Так, з'ясувалося, що на ГРВІ вірогідно частіше хворіли особи із генотипами Leu/Phe TLR-3 (91,2 %), Phe/Phe TLR-3 (100,0 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями нормальних генотипів TLR (69,4 %,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,05$  відповідно).

Вірогідно вищим у цих категорій осіб виявився також відсоток тих, які хворіли на ГРВІ 4 і більше разів протягом року: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 4,6 (38,2 %,  $p < 0,003$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 8,7 (72,7 %,  $p < 0,00006$ ), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 7,8

разу (62,5 %,  $p < 0,002$ ) (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 8,0 %) (рис. 4.1).



**Рис. 4.1 Частота епізодів ГРВІ протягом року в осіб із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Слід відмітити, що третина (30,6 %) обстежених із нормальним розподілом алелей генів TLR хворіли на ГРВІ рідко – 1 раз на 2 роки і менше, чого практично не відмічалось в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (при генотипі Leu/Phe TLR-3 – 8,8 %,  $p < 0,03$ , Phe/Phe TLR-3 – 0,0 %,  $p < 0,04$ ).

Закономірно в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 виявляли приєднання ускладнень запальними процесами дихальних шляхів у 42 із 62 (при нормальному розподілі алелей TLR у 12 із 34,  $p < 0,001$ )

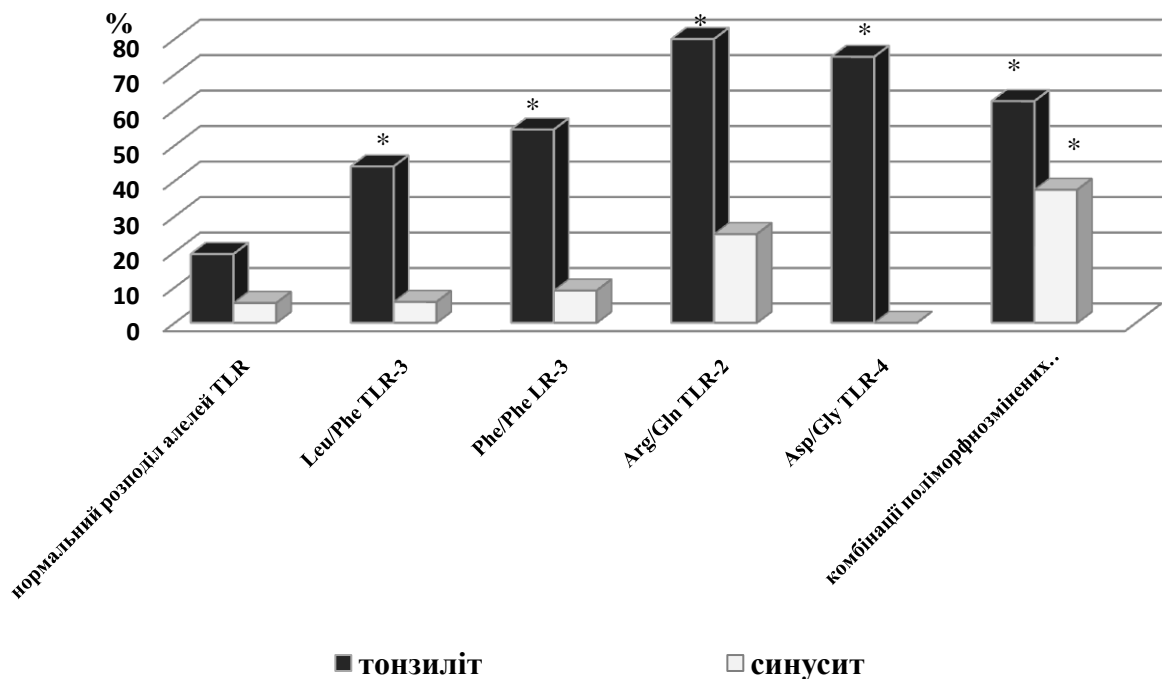


хворих на ГРВІ, зокрема: при генотипі Leu/Phe TLR-3 – у 21 (61,8 %,  $p < 0,05$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 10 (90,9 %,  $p < 0,001$ ), Asp/Gly TLR-4 – у 4 (100,0 %,  $p < 0,02$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 7 (87,5 %,  $p < 0,01$ ), (при нормальному розподіл алелей TLR – у 12 (35,3 %)). Серед ускладнень переважали ураження нижніх дихальних шляхів (НДШ) – бронхіт та пневмонія. Так розвиток бронхіту на тлі ГРВІ відмічався у 64,5 % ( $p < 0,03$ ) обстежених з генотипом Leu/Phe TLR-3, 81,8 % ( $p < 0,01$ ) з Phe/Phe TLR-3, 75,0 % ( $p < 0,05$ ) з Asp/Gly TLR-4, 87,5 % ( $p < 0,01$ ) комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 32,0 %), пневмонії – у 23,5 % ( $p < 0,04$ ) осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3, 45,5 % ( $p < 0,01$ ) з Phe/Phe TLR-3 та 50,0 % ( $p < 0,02$ ) з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 8,0 %). В осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 пневмонія, як ускладнення ГРВІ, розвивалася також частіше в 3,1 разу (у 25,0 %), але не мала вірогідної різниці в порівнянні з носіями нормальних генотипів – 8,0 %. Отримані результати підтверджувалися розрахованим показником відношення шансів, за даними якого особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мали підвищений ризик розвитку запальних процесів нижніх дихальних шляхів при ГРВІ: з генотипом Leu/Phe TLR-3 у 2,9 (OR=2,9; 95 % CI:1,1-7,94), Phe/Phe TLR-3 – у 20,0 (OR=20; 95 % CI:2,29-175,05), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 12,8 разу (OR=12,8; 95 % CI:1,41-117,01), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR.

Крім того, з'ясувалося, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 вірогідно частіше хворіли на запальні захворювання нижніх дихальних шляхів, які не були пов'язані з ГРВІ. Так, за даними анамнезу та амбулаторних карт на бронхіт хворіли 32,4 % осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3, 45,5 % з Phe/Phe TLR-3, 62,5 % з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 11,1 %,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,02$ ,  $p < 0,03$  відповідно),

пневмонію – 27,3 % з Phe/Phe TLR-3, 37,5 % з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 2,8 %,  $p < 0,03$ ).

Хронічні запальні захворювання верхніх дихальних шляхів також вірогідно частіше мали місце в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 і були представлені переважно тонзилітом і синуситом, у частини – фарингітом (рис. 4.2).



**Рис. 4.2 Частота хронічної патології верхніх дихальних шляхів в осіб із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

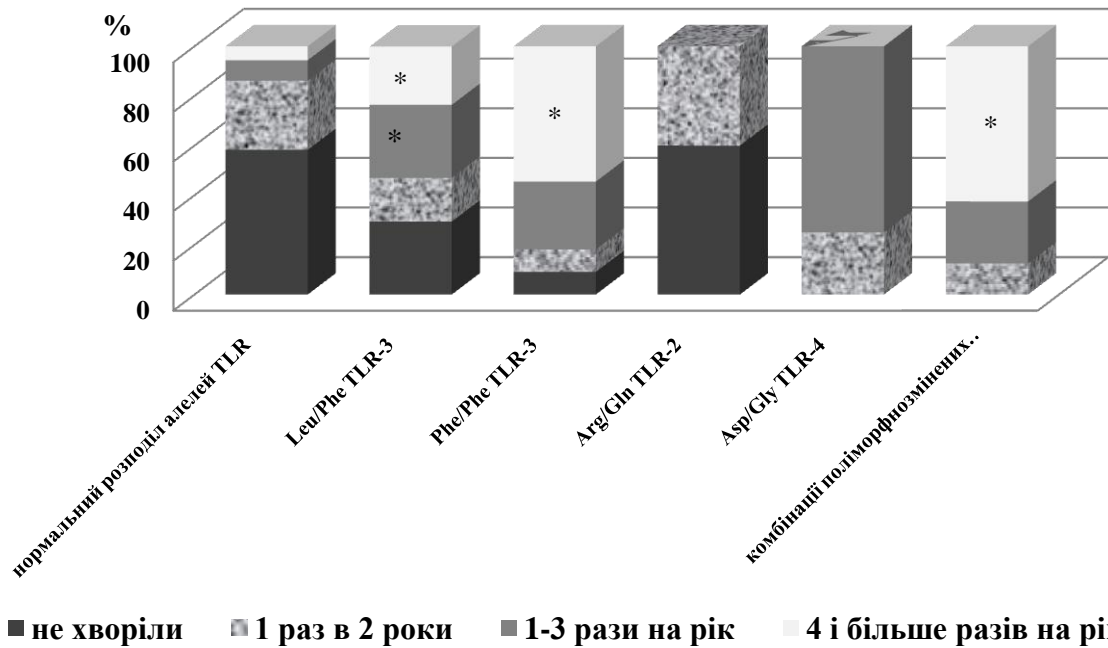
Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Як видно з рис. 4.2, тонзиліт вірогідно частіше, в порівнянні з особами з нормальним розподілом алелей генів TLR (19,4 %) виявлявся у носіїв генотипів Leu/Phe TLR-3 – у 2,3 (44,1 %,  $p < 0,03$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 2,8 (54,4 %,  $p < 0,04$ ), Arg/Gln TLR-2 – у 4,1 (80,0 %,  $p < 0,01$ ), Asp/Gly TLR-4 –

у 3,9 (75,0 %,  $p<0,04$ ), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,2 разу (62,5 %,  $p<0,02$ ). Синусит реєструвався вірогідно частіше в осіб із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (37,5 %) (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 5,6 %,  $p<0,03$ ).

При поглибленому загальноклінічному обстеженні встановлено, що частота хронічних уражень шлунково-кишкового тракту була вірогідно вищою в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3: з Leu/Phe – 47,1 %, Phe/Phe – 72,7 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 22,2 %,  $p<0,04$  і  $p<0,004$  відповідно). При цьому частіше діагностувалися панкреатит – у 17,6 % з генотипом Leu/Phe TLR-3, у 45,4 % з Phe/Phe TLR-3 (0,0 % – при нормальному розподілі алелей TLR,  $p<0,01$  і  $p<0,0003$  відповідно) та холецистит – у 36,4 % з Phe/Phe TLR-3 (5,6 % – при нормальному розподілі алелей TLR,  $p<0,02$ ).

Встановлено, що клінічно маніфестні форми простого герпесу вірогідно частіше відмічали особи з генотипами Leu/Phe TLR-3 (70,6 %), Phe/Phe TLR-3 (90,9 %), Asp/Gly TLR-4 (100,0 %), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (41,7 %,  $p<0,02$ ,  $p<0,006$ ,  $p<0,04$ ,  $p<0,004$  відповідно). Основними клінічними формами простого герпесу, як в осіб із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR були: герпетичний везикулярний дерматит з ураженням слизових оболонок та шкіри губ і носа (81,2 % і 86,7 % відповідно) та герпетична уrogenітальна інфекція (18,8 % і 13,3 % відповідно). За частотою рецидивів простого герпесу протягом року особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 відрізнялися від носіїв нормального розподілу алелей генів (рис. 4.3).



**Рис. 4.3 Частота рецидивів простого герпесу в осіб із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Як видно з рис. 4.3, осіб із частотою рецидивів простого герпесу 4 і більше протягом року виявилося більше серед обстежених із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 4,2 (23,5 %), Phe/Phe TLR-3 – у 9,7 (54,5 %), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 11,2 разу (62,5 %), ніж при нормальному розподілі алелей генів TLR (5,6 %,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,0009$ ,  $p < 0,02$  відповідно). Хворих з рецидивами 1-3 рази на рік було більше серед осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – 29,4 % (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 8,3 %,  $p < 0,03$ ).

При вивченні анамнезу з'ясувалося, що в дитячому віці переважна більшість обстежених із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (95,2 % і 69,4 % відповідно) переохворіли на дитячі повітряно-крапельні інфекції, які мали типову клінічну картину без ускладнень (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Частота дитячих повітряно-краплинних інфекцій в осіб із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, абс. число (%)**

Генотип Захворювання	Нормальний розподіл алелей TLR (n=36)	TLR-3 Leu/Phe (n=34)	TLR-3 Phe/Phe (n=11)	TLR-2 Arg/Gln (n=5)	TLR-4 Asp/Gly (n=4)	Комбінації поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=8)
Вітряна віспа	19 (52,8)	28 (82,3)*	10 (90,9)*	4 (80,0)	4 (100,0)	8 (100,0)*
Кір	5(13,9)	9 (26,5)	5 (45,5)*	3 (60,0)*	3 (75,0)*	3 (37,5)
Краснуха	4 (11,1)	5 (14,7)	2 (18,2)	2 (40,0)	1 (25,0)	0 (0,0)
Паротит	4 (11,1)	2 (5,9)	1 (9,1)	0 (0,0)	2 (50,0)*	4 (50,0)*
Скарлатина	0 (0,0)	1 (2,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Кашлюк	2 (5,6)	0	2 (18,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Примітка. \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Проте особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 вірогідно частіше, в порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR, вказували на окремі дитячі інфекції, а саме: на вітряну віспу – з генотипом Leu/Phe TLR-3 (82,3 %), Phe/Phe TLR-3 (90,9 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 52,8 %,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,01$  відповідно), кір – з генотипом Phe/Phe TLR-3 (45,5 %), Arg/Gln TLR-2 (60,0 %), Asp/Gly TLR-4 (75,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 13,9 %,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,02$  відповідно), паротит – з Asp/Gly TLR-4 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (по 50,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 11,1 %,  $p < 0,02$  і  $p < 0,05$  відповідно). Таких, що не відмічали жодної повітряно-крапельної інфекції в анамнезі виявилось більше серед обстежених із нормальним розподілом алелей TLR (30,6 %), у порівнянні з носіями генотипів Leu/Phe TLR-3 (8,8 %,  $p < 0,03$ ), Phe/Phe TLR-3 (0,0 %,  $p < 0,04$ ), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR (0,0 %,  $p < 0,05$ ).

За даними анамнезу алергічні реакції відмічали практично з однаковою частотою обстежені із поліморфнозміненими генотипами (22,6 %) та з нормальним розподілом алелей генів (27,7 %). Клінічними проявами алергії, як в осіб із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, були кропив'янка (8,1 % та 8,3 % відповідно), алергічний риніт та кон'юнктивіт (4,8 % та 8,3 % відповідно), контактний дерматит (9,7 % та 11,1 % відповідно). Провокуючими алергенами визначалися: ліки (з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 11,3 %, з нормальним розподілом алелей генів – 4,1 %), інсоляція (з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 3,2 %, з нормальним розподілом алелей генів – 2,8 %), пилок рослин (з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 6,4 %, з нормальним розподілом алелей генів – 8,3 %). На алергію до миючих засобів та продуктів харчування вказували лише особи із

поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (6,4 %). При порівняльному аналізі частоти алергічних проявів та провокуючих алергенів в осіб із окремими поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей генів вірогідної різниці не виявлено. Проте, наявність алергічних проявів до двох і більше алергенів відмічалася лише в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 (11,8 %, при нормальному розподілі алелей TLR – 0,0 %,  $p < 0,05$ ).

На шкідливі звички обстежені з поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 вказували практично з однаковою частотою 24,2 % та 27,8 % відповідно. Серед осіб, які мали шкідливі звички, на паління вказували всі обстежені, надмірне вживання алкоголю 3 (4,8 %) з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 2 (5,6 %) з нормальним розподілом алелей генів.

За даними сімейного анамнезу з'ясовано, що ураження шлунково-кишкового тракту вірогідно частіше відмічалися серед близьких родичів обстежених із генотипами Leu/Phe TLR-3 (47,1 %), Phe/Phe TLR-3 (63,6 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 22,2 %,  $p < 0,04$  і  $p < 0,02$  відповідно), бронхіальна астма – з Asp/Gly TLR-4 (50,0 %,  $p < 0,02$ , при нормальному розподілі алелей TLR – 2,8 %).

Отже, проведений аналіз показав, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів, ГРВІ з частотою 4 і більше протягом року, які закономірно ускладнюються запальними процесами НДШ, простого герпесу з рецидивами 4 і більше протягом року. Отримані дані підтверджувалися і результатами кореляційного аналізу (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Кореляційний взаємозв'язок між поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та діагностованою патологією**

Захворювання	Генотип									
	TLR-3 Leu/Phe (n=34)		TLR-3 Phe/Phe (n=11)		TLR-2 Arg/Gln (n=5)		TLR-4 Asp/Gly (n=4)		Комбінації поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=8)	
	Показник кореляції, φ	р	Показник кореляції, φ	р	Показник кореляції, φ	р	Показник кореляції, φ	р	Показник кореляції, φ	р
ГРВІ	0,371	p<0,05*	0,305	p<0,05*	0,225	p>0,05	0,205	p>0,05	0,332	p<0,05*
Частота ГРВІ 4 і більше на рік	0,390	p<0,05*	0,536	p<0,01*	-0,110	p>0,05	0,161	p>0,05	0,508	p<0,05*
Ускладнений перебіг ГРВІ запальними процесами НДШ	0,384	p<0,05*	0,478	p<0,01*	0,032	p>0,05	0,402	p<0,05*	0,421	p<0,01*



Продовж. табл. 4.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Тонзиліт	0,570	p<0,05*	0,654	p<0,05*	0,35	p>0,05	0,6	p>0,05	0,654	p<0,05*
Синусит	-0,277	p>0,05	0,191	p>0,05	-0,158	p>0,05	-0,447	p>0,05	0,547	p<0,05*
Бронхіт	0,383	p<0,05*	0,525	p<0,05*	-0,121	p>0,05	0,354	p<0,05*	0,531	p<0,05*
Пневмонія	0,356	p<0,05*	0,547	p<0,05*	-0,166	p>0,05	0,221	p>0,05	0,499	p<0,05*
Простий герпес	0,379	p<0,05*	0,411	p<0,01*	-0,019	p>0,05	0,346	p<0,05*	0,445	p<0,01*
Рецидиви простого герпесу 4 і більше на рік	0,346	p<0,05*	0,490	p<0,05*	-0,133	p>0,05	0,161	p>0,05	0,508	p<0,05*
Кір	0,151	p>0,05	0,326	p<0,05*	0,381	p<0,05*	0,458	p<0,01*	0,232	p>0,05
Вітряна віспа	0,314	p<0,05*	0,332	p<0,05*	0,172	p>0,05	0,281	p>0,05	0,374	p<0,05*
Паротит	-0,09	p>0,05	-0,03	p>0,05	-0,125	p>0,05	0,324	p<0,05*	0,388	p<0,05*
Панкреатит	0,379	p<0,05*	0,624	p<0,01*	-0,05	p>0,05	-0,05	p>0,05	0,323	p<0,05*
Холецистит	0,183	p>0,05	0,391	p<0,05*	-0,337	p>0,05	-0,316	p>0,05	0,260	p>0,05

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 з використанням коефіцієнта контингенції Пірсона

Як видно із наведених у табл. 4.2 даних, генотипи Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3, а також їхні комбінації з Arg/Gln TLR-2 та Asp/Gly TLR-4 мали прямий кореляційний зв'язок із ГРВІ з частими (більше 4 на рік) епізодами протягом року, ускладненим перебігом запальними процесами НДШ, тонзилітом, бронхітом, пневмонією, простим герпесом з частотою рецидивів 4 і більше протягом року. Крім того, спостерігалася кореляція комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 із синуситом ( $\varphi=0,547$ ,  $p<0,05$ ) та гетерозиготного генотипу Asp/Gly TLR-4 із ускладненим перебігом ГРВІ запальними процесами НДШ ( $\varphi=0,402$ ,  $p<0,05$ ), зокрема бронхітом ( $\varphi=0,354$ ,  $p<0,05$ ). Результатами кореляційного аналізу підтверджувався також зв'язок поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 із дитячими повітряно-краплинними інфекціями: з кором – генотипів Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,326$ ,  $p<0,05$ ), Arg/Gln TLR-2 ( $\varphi=0,381$ ,  $p<0,05$ ), Asp/Gly TLR-4 ( $\varphi=0,458$ ,  $p<0,01$ ), вітряною віспою – Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,314$ ,  $p<0,05$ ,  $\varphi=0,332$ ,  $p<0,05$  відповідно) та комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,374$ ,  $p<0,05$ ), паротитом – Asp/Gly TLR-4 ( $\varphi=0,324$ ,  $p<0,05$ ) і комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,388$ ,  $p<0,05$ ), а також хронічною патологією шлунково-кишкового тракту панкреатитом – Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,379$ ,  $p<0,05$  і  $\varphi=0,624$ ,  $p<0,01$  відповідно) та комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,323$ ,  $p<0,05$ ), холециститом – Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,391$ ,  $p<0,05$ ).

**Резюме.** Таким чином, отримані дані показали, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів, ГРВІ з частотою епізодів 4 і більше протягом року та рецидивуючого простого герпесу. Ризик розвитку бронхіту та пневмонії при ГРВІ вірогідно вищий в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,9 (OR=2,9; 95 % CI:1,1-7,94), Phe/Phe TLR-3 – у 20,0 (OR=20,0;

95 % CI:2,29-175,05), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 12,8 разу (OR=12,8; 95 % CI:1,41-117,01).

Основні положення розділу знайшли відображення в опублікованих працях автора:

1 Прийменко Н. О. Роль поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у формуванні сприйнятливості до запальних захворювань дихальних шляхів // Н. О. Прийменко // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2013. – Т. 13, № 2(42). – С. 152-156.

2 Прийменко Н. О. Вплив поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на формування сприйнятливості до запальних захворювань дихальних шляхів і перебіг пневмонії при грипі / Н. О. Прийменко, Г. М. Дубинська, О. М. Ізюмська // Вірусні хвороби. ВІЛ-інфекція/СНІД: мат. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 3-4 жовтня 2013 р. – Алушта, 2013. – С. 276-278.

**РОЗДІЛ 5**  
**КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИПУ ТА ГРИП-АСОЦІЙОВАНИХ**  
**ПНЕВМОНІЙ В ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN**  
**TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4**

**5.1 Клінічна характеристика хворих із неускладненим перебігом грипу з поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4**

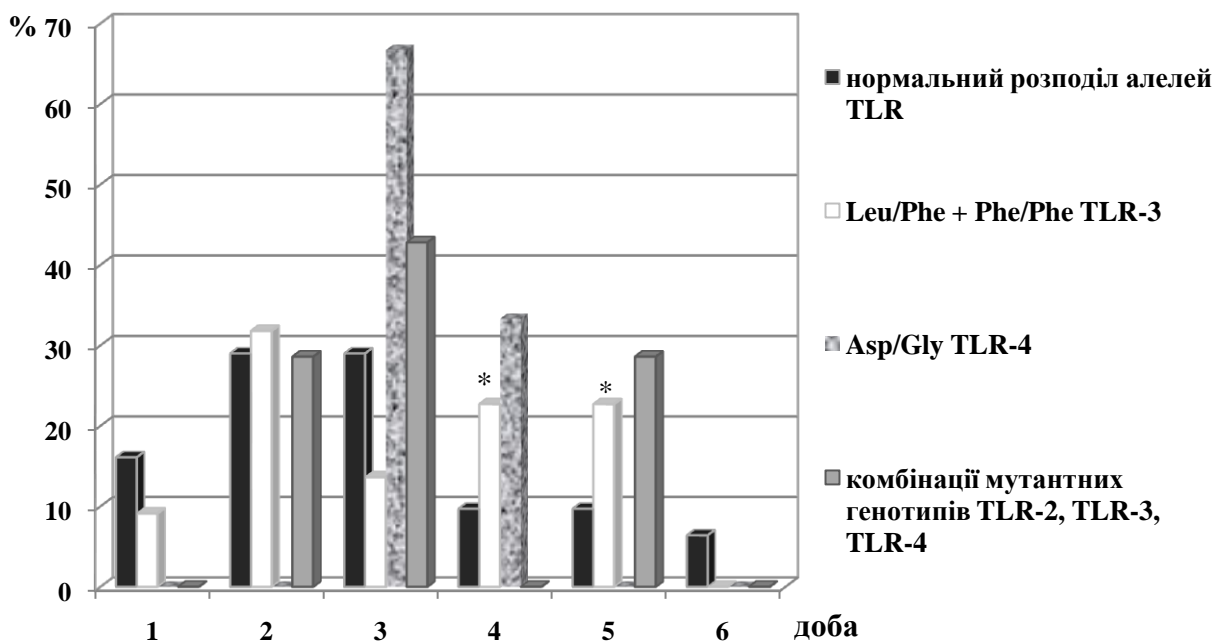
Для оцінки перебігу грипу, в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 проведене обстеження 112 хворих, із них 63 – на неускладнений перебіг захворювання та 49 – на грип-асоційовану пневмонію, що лікувалися в ПОКІЛ у період з 2009 по 2014 рік. Жінок – 55 (49,1 %), чоловіків – 57 (50,9 %), від 18 до 64 років, (середній –  $34,40 \pm 1,38$ ). Більшість обстежених (70,5 %) – люди молодого та середнього віку. Хворі на грип-асоційовану пневмонію не мали загально визнаних факторів ризику розвитку ускладненого перебігу грипу.

Етіологічним фактором у більшості обстежених з неускладненим перебігом грипу та грип-асоційованою пневмонією визначався вірус грипу А (А/Н3Н2 – 44 (39,3 %), А/Н1Н1 – 40 (35,7 %), А/Н2Н2 – 1 (0,9 %), В – 24 (21,4 %). Мікст-форми були представлені поєднанням антигенних варіантів вірусів грипу А (Н1Н1 + Н3Н2), а також вірусів А/Н1Н1 і В, які виявлялися лише у хворих на грип-асоційовану пневмонію з частотою 1,78 % та 0,9 % відповідно.

Аналіз перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії проводили шляхом зіставлення клініко-лабораторних характеристик осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR. Хворі з неускладненим перебігом грипу за генотипами розподілилися наступним чином: із мутантними генотипами TLR-3 – 22 (20 – Leu/Phe, 2 – Phe/Phe), гетерозиготним Asp/Gly TLR-4 – 3, комбінаціями

мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 7, із нормальним розподілом алелей TLR – 31 особа. Поліморфнозмінений генотип Arg/Gln TLR-2 визначався лише в поєднанні з мутантними генотипами TLR-3 та TLR-4 у 3 осіб, тому проаналізувати перебіг грипу у хворих із даною мутацією неможливо.

При аналізі даних клінічного обстеження встановлено, що більшість хворих як із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, так і з нормальним розподілом алелей TLR надходила до стаціонару на 1-3 добу захворювання (рис. 5.1.1).



**Рис. 5.1.1 Терміни госпіталізації хворих на грип**

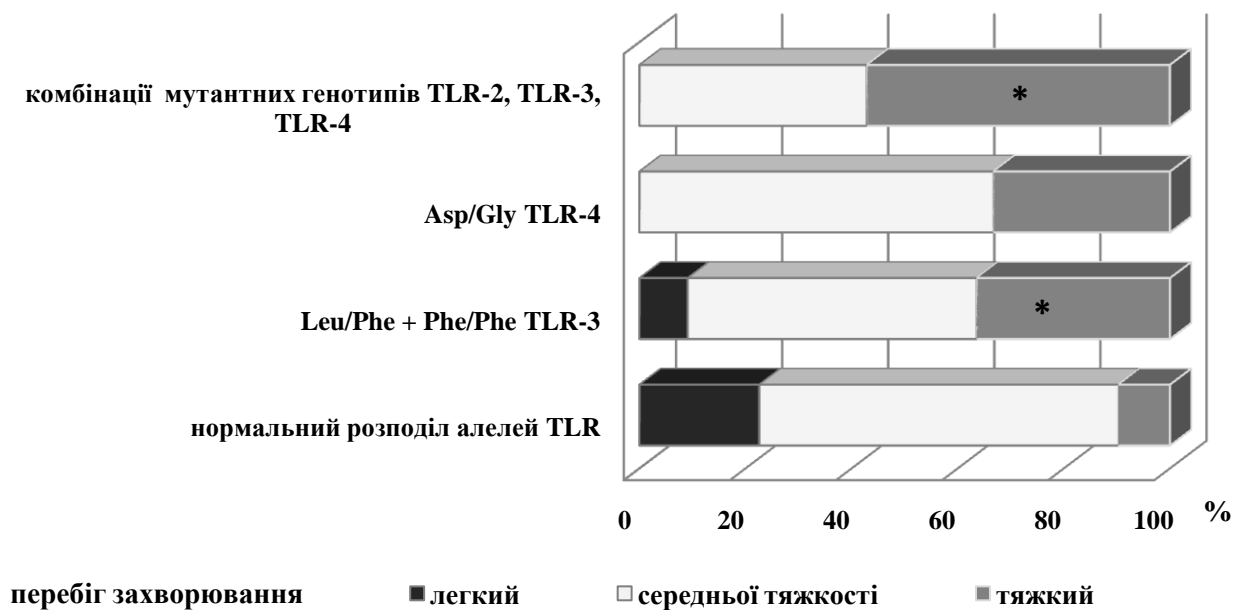
Примітка. \*–  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Як видно з рис. 5.1, у перші три доби захворювання до стаціонару поступили 12 (54,5 %) хворих із мутантними генотипами TLR-3, 5 (71,4 %) із комбінаціями мутацій в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4, 2 (66,7 %) з генотипом Asp/Gly TLR-4 та 24 (77,4 %) із нормальним розподілом алелей TLR. На 4-5 добу госпіталізовані решта пацієнтів, а саме, з генотипами Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 – 10 (45,4 %), Asp/Gly TLR-4 – 1 (33,3 %), з комбінацією мутантних

генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 2 (28,6 %), з нормальним розподілом алелей TLR – 5 (16,1 %). На 6 добу надійшло лише 2 (6,4 %) хворих із нормальним розподілом алелей, досліджуваних TLR.

Таким чином, аналіз термінів госпіталізації показав, що відсоток пацієнтів, які госпіталізувалися на 1-3 добу із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 достовірно не відрізнявся, а на 4-5 добу виявився вірогідно вищим серед осіб із мутантними генотипами TLR-3 (45,4 % із нормальним розподілом алелей TLR – 16,1 %,  $p < 0,03$ ), що може вказувати на тяжчий перебіг грипу в цих хворих.

Дійсно, при аналізі перебігу грипу встановлено, що в 8 (36,4 %,  $p < 0,04$ ) осіб із мутантними генотипами TLR-3 та 4 (57,1 %,  $p < 0,02$ ) з комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 за сукупністю клініко-лабораторних досліджень, проведених у динаміці, мав місце тяжкий перебіг хвороби, у той час, як у пацієнтів із нормальним розподілом алелей TLR, – у 3 (9,7 %) (рис. 5.1.2).



**Рис. 5.1.2 Розподіл хворих за тяжкістю перебігу грипу**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Загалом за тяжкістю перебігу грипу хворі розподілилися наступним чином: з мутантними генотипами TLR-3 – легкий мав місце в 2 (9,1 %), середньої тяжкості – в 12 (54,5 %), тяжкий – у 8 (36,4 %), із нормальним розподілом алелей TLR – в 7 (22,6 %), 21 (67,7 %) і 3 (9,7 %) відповідно. Слід відмітити, що в осіб із мутаціями в гені TLR-4 та їх поєднанням із TLR-2 і TLR-3 легкий перебіг грипу не реєструвався взагалі, а частка середньотяжкого та тяжкого складала: з генотипом Asp/Gly TLR-4 66,7 % і 33,3 %, комбінацією мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 42,9 % і 57,1 % відповідно.

Отримані дані підтверджувалися і результатами кореляційного аналізу, який виявив прямий статистичний зв'язок мутантних генотипів TLR-3 ( $\phi=0,323$ ,  $p<0,05$ ) та їхніх комбінацій з TLR-2 і TLR-4 ( $\phi=0,446$ ,  $p<0,05$ ) із тяжким перебігом грипу.

Загальна характеристика основних симптомів грипу в обстежених хворих та частота їхньої реєстрації представлена в табл. 5.1.1. З даних наведених у таблиці, випливає, що грип в усіх обстежених нами пацієнтів мав типовий перебіг, але в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 визначалися відмінності, що проявлялися у вираженості інтоксикаційного синдрому та тривалості основних клінічних симптомів. Так, в усіх хворих у клініці грипу домінували два основні синдроми – токсикоз і катаральні явища, при цьому токсикоз переважав із перших днів хвороби. Захворювання розпочиналося гостро з явищ загальної інтоксикації. Майже всі пацієнти вказували на сильний озноб. Одночасно виникав біль у ділянці лоба, надбрівних дуг, скронь, очей. Біль посилювався при русі очних яблук, супроводжувався світлобоязню. Однак, на головний біль достовірно частіше скаржилися пацієнти з мутантними генотипами TLR-3 (90,9 %,  $p<0,03$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %,  $p<0,002$ ), у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей TLR (67,7 %).

Таблиця 5.1.1

**Частота основних клінічних симптомів у хворих на грип із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, %**

Симптом		Група хворих							
		Нормальний розподіл алелей TLR (n=31)		TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=22)		TLR-4 Asp/Gly (n=3)		Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=7)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1		2	3	4	5	6	7	8	9
Температура	37-37,9°C	3	9,7	3	13,6	0	0,0	1	14,3
	38-38,9°C	18	58,1	5	22,7	2	66,7	0	0,0
	≥39°C	10	32,3	14	63,6*	1	33,3	6	85,7*
Загальна слабкість		31	100,0	22	100,0	3	100,0	7	100,0
Головний біль		21	67,7	20	90,9*	3	100,0	7	100,0*
Запаморочення		0	0,0	4	18,2*	0	0,0	1	14,3°
Нудота		4	12,9	3	13,6	1	33,3	1	14,3
Блювання		4	12,9	2	9,1	0	0,0	0	0,0
Пітливість		27	87,1	21	95,4	3	100,0	7	100,0



Продовження табл. 5.1.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ломота	11	35,5	13	59,1	3	100,0	4	57,1
Біль у горлі	17	54,8	11	50,0	2	66,7	4	57,1
Закладання носа	20	64,5	10	45,4	2	66,7	2	28,6
Біль за грудиною	4	12,9	2	9,1	0	0,0	1	14,3
Кашель	23	74,2	17	77,3	2	66,7	6	85,7
Гіперемія слизової оболонки ротоглотки	31	100,0	22	100,0	3	100,0	7	100,0
Ін'єкція судин склер	10	32,3	9	40,9	1	33,3	1	14,3
Зернистість задньої стінки глотки	14	45,2	12	54,5	2	66,7	6	85,7

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; ° –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Усі хворі відмічали слабкість, розбитість, адинамію, переважна більшість (92,1 %) – пітливість. На ломоту в тілі, артралгії, м'язові болі частіше скаржилися пацієнти із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (Asp/Gly TLR-4 – 100,0 %, мутантними генотипами TLR-3 – 59,1 %, комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 57,1 %), у порівнянні з особами з нормальним розподілом алелей TLR (35,5 %), але достовірної різниці між групами обстежених не виявили. Нудота вдвічі частіше відмічалася в осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 (33,3 %) та майже з однаковою частотою в обстежених із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (13,6 % і 14,3 % відповідно), при нормальному розподілі алелей TLR – 12,9 %.

Із перших годин хвороби температура тіла у 31 (49,2 %) пацієнтів сягала вище 39° С, у 25 (39,7 %) була в межах 38-39° С і лише у 7 (11,1 %) відмічався субфебрилітет. При цьому, у хворих із мутантними генотипами TLR-3 (63,6 %,  $p < 0,02$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (85,7 %,  $p < 0,02$ ) достовірно частіше, в порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (32,3 %), температура перевищувала 39° С. У більшості обстежених із генотипом Asp/Gly TLR-4 (66,7 %) та нормальним розподілом алелей TLR (58,1 %) максимальна температура реєструвалася на рівні 38-39° С. Підвищення температури до субфебрильних цифр відмічалася практично з однаковою частотою в обстежених із мутантними генотипами (з Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3 – у 13,6 %, комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 14,3 %) та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (9,7 %). Через 2-3 доби у 13 (20,6 %) пацієнтів температура знижувалася критично або укороченим лізисом, у 31 (49,2 %) зберігалася протягом 4-5 діб та у 19 (30,2 %) гарячка тривала більше 5 діб. Частіше температурна крива реєструвалася у вигляді *continua*; у 22 (34,9 %) хворих вона набувала характеру *remittens*, що, очевидно, пов'язано з прийомом жарознижувальних засобів.

Катаральний синдром проявлявся сухістю, першінням у горлі, закладанням носа у всіх хворих. На кінець першої доби, іноді – на другу, в більшості пацієнтів як із мутантними генотипами (з TLR-3 – у 77,3 %, Asp/Gly TLR-4 – у 66,7 %, комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 85,7 %), так і з нормальним розподілом алелей TLR (74,2 %) виникав сухий кашель, інтенсивність якого швидко наростала. З’являлися скарги на відчуття печії та болю за грудиною, обумовлені запальним процесом у слизовій оболонці трахеї і бронхів, які пред’являли практично з однаковою частотою хворі з мутантними генотипами TLR-3 (9,1 %) комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (14,3 %) та нормальним розподілом алелей TLR (12,9 %). На 3-5 добу кашель ставав м’якшим, з’являлося мізерне слизисте харкотиння, зменшувався біль за грудиною. У 20 (64,5 %) хворих із нормальним розподілом алелей TLR, 10 (45,4 %) з мутантними генотипами TLR-3 та 2 (28,6 %) з комбінаціями мутацій TLR-2, TLR-3, TLR-4 з першого дня недуги носове дихання було утруднено за рахунок набряку слизової оболонки носа, проте кількість виділень була невелика. На 2-3 день хвороби з’являлися мізерні серозні або слизисті виділення.

У перші дні хвороби привертала увагу виражена гіперемія і одутлість обличчя практично у всіх хворих. Крім того, у 40,0 % хворих із мутантними генотипами TLR-3, 33,3 % з Asp/Gly TLR-4, 32,3 % з нормальним розподілом алелей TLR та 14,3 % з комбінаціями мутацій в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 визначався склерит. У всіх хворих на слизовій оболонці ротоглотки відмічалася яскрава розлита гіперемія, на тлі якої в області задньої стінки глотки у 71,4 % пацієнтів із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4, 54,0 % з Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3, 66,7 % з Asp/Gly TLR-4, та 45,2 % із нормальним розподілом алелей TLR визначалася “зернистість”. При аускультатії легень у більшості хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR вислуховувалось везикулярне дихання з жорстким відтінком. На рентгенограмах посилення судинного малюнка

виявляли у 42,8 % осіб із комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 та практично з однаковою частотою у хворих із мутантними генотипами TLR-3, Asp/Gly TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR – у 31,8 %, 33,3 % та 32,2 % відповідно. Розширення коренів легень визначалося у 4,5 % обстежених із мутантними генотипами TLR-3. Збільшення печінки та селезінки в обстежених пацієнтів не відмічалось.

У більшості хворих відмічалися ознаки токсичного ураження центральної нервової системи. Так, на порушення сну скаржилися 16 (72,7 %) пацієнтів із мутантними генотипами TLR-3, 3 (100,0 %) з Asp/Gly TLR-4, 5 (71,4 %) з комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 17 (54,8 %) із нормальним розподілом алелей TLR. Практично у всіх хворих мала місце емоційна лабільність. Скарги на запаморочення пред'являли лише пацієнти з мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (18,2 %,  $p < 0,02$  і 14,3 %,  $p < 0,1$  відповідно).

За тривалістю окремих симптомів грипу особи з мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 відрізнялися від обстежених із нормальним розподілом алелей TLR. Так, при неускладненому перебігу грипу температурна реакція довше зберігалася у хворих із генотипом Asp/Gly TLR-4 ( $5,66 \pm 0,33$ ) діб ( $p < 0,005$ ) та комбінаціями в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $6,71 \pm 1,15$ ) діб ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR ( $4,51 \pm 0,23$  діб). При цьому тривалість максимальних показників температури у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 практично не відрізнялася, за винятком осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 ( $4,66 \pm 0,88$ , з нормальним розподілом алелей TLR –  $3,22 \pm 0,22$ ,  $p < 0,1$ ). У хворих із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями їх із TLR-2 і TLR-4 довше трималися головний біль ( $3,25 \pm 0,37$  доби,  $p < 0,001$  і  $4,28 \pm 1,13$  доби,  $p < 0,02$  відповідно), пітливість ( $4,57 \pm 0,33$  доби,  $p < 0,01$  і  $5,86 \pm 1,12$  доби,  $p < 0,02$ ), біль у горлі ( $4,18 \pm 0,44$  доби,  $p < 0,05$  і  $4,25 \pm 0,62$  доби,  $p < 0,1$ ), загальна слабкість ( $6,04 \pm 0,43$  доби,  $p < 0,1$  і  $8,0 \pm 2,0$  доби,  $p < 0,1$ ) (табл. 5.1.2).

Таблиця 5.1.2

**Тривалість основних клінічних симптомів у хворих на грип із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, M±m**

Симптом	Тривалість, (дні)			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=31)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=22)	TLR-4 Asp/Gly (n=3)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=7)
1	2	3	4	5
Температурна реакція	4,51±0,23	4,68±0,42	5,66±0,33 *	6,71±1,15 *
Максимальна температура	3,22±0,22	3,23±0,36	4,66±0,88 °	4,71±0,86
Загальна слабкість	5,13±0,49	6,04±0,43 °	5,33±0,33	8,0±2,0 °
Головний біль	1,86±0,15	3,25±0,37 *	3,0±1,0	4,28±1,13 *
Нудота	1,02±0,11	1,66±0,33 *	-	-
Пітливість	3,48±0,23	4,57±0,33 *	4,66±0,88	5,86±1,12 *
Ломота	2,18±0,22	2,77±0,39 °	4,66±1,20	2,50±0,28
Біль у горлі	3,22±0,28	4,18±0,44 *	4,50±0,50	4,25±0,62 °
Закладання носа	3,28±0,31	3,20±0,55	4,50±0,50	7,50±3,50

Продовження табл. 5.1.2

1	2	3	4	5
Біль за грудиною	1,75±0,47	1,50±0,49	-	-
Кашель	5,30±0,44	6,06±0,49	6,00±2,00	7,17±1,64
Гіперемія слизової оболонки ротоглотки	4,58±0,29	4,45±0,26	4,00±0,50	7,14±1,42
Ін'єкція судин склер	2,50±0,17	2,88±0,20	-	-
Зернистість задньої стінки глотки	3,0±0,37	4,33±0,22	3,0±1,0	6,67±1,34

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

Обстежені з генотипами Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3 довше відмічали скарги на нудоту ( $1,66 \pm 0,33$  доби, із нормальним розподілом алелей TLR –  $1,02 \pm 0,11$  доби,  $p < 0,05$ ) та, з тенденцією до вірогідності, на ломоту в тілі ( $2,77 \pm 0,39$  доби, із нормальним розподілом алелей TLR –  $2,18 \pm 0,22$  доби,  $p < 0,1$ ).

Оскільки, наявність та вираженість клінічних симптомів грипу залежить від тяжкості перебігу, представилося доцільним співставити перебіг грипу різної тяжкості в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4. Так як хворих з легким перебігом серед осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 та його поєднанням із мутаціями в генах TLR-2 і TLR-3 не було, аналізувався перебіг середньої тяжкості та тяжкий. Проведені дослідження показали відсутність суттєвих відмінностей у частоті основних клінічних проявів при середньотяжкому та тяжкому перебігу між хворими з мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (табл. 5.1.3).

Таблиця 5.1.3

**Частота основних клінічних симптомів у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грипу**

Симптом		Середньотяжкий перебіг						Тяжкий перебіг					
		Нормальний розподіл алелей TLR (n=21)		TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=12)		Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)		Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)		TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=8)		Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Температура	37-37,9°C	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	38-38,9°C	15	71,4	3	25,0	1	33,3	2	66,7	2	25,0	0	0,0
	≥39°C	6	28,6	9	75,0*	2	66,7	1	33,3	6	75,0	4	100,0*
Загальна слабкість		21	100,0	12	100,0	3	100,0	3	100,0	8	100,0	4	100,0
Головний біль		15	71,4	10	83,3	3	100,0	1	33,3	8	100,0*	4	100,0
Запаморочення		3	14,3	2	16,7	0	0,0	0	0,0	2	25,0	1	25,0
Нудота		3	14,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	37,5	1	25,0



Продовження табл. 5.1.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Блювання	3	14,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	25,0	0	0,0
Пітливість	18	85,7	12	100,0	3	100,0	3	100,0	7	87,5	4	100,0
Ломота	9	42,8	7	58,3	2	66,7	0	0,0	5	62,5	2	50,0
Біль у горлі	11	52,4	5	41,7	3	100,0	3	100,0	5	62,5	1	25,0
Закладання носа	15	71,4	7	58,3	0	0,0	3	100,0	2	25,0	2	50,0
Біль за грудиною	3	14,3	1	8,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	25,0
Кашель	16	76,2	8	66,7	2	66,7	3	100,0	7	87,5	4	100,0
Гіперемія слизової оболонки ротоглотки	21	100,0	12	100,0	3	100,0	3	100,0	8	100,0	4	100,0
Ін'єкція судин склер	4	19,0	6	50,0	0	0,0	3	100,0	3	37,5	1	25,0
Зернистість задньої стінки глотки	10	47,6	6	50,0	3	100,0	1	33,3	5	62,5	3	75,0

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Проте з'ясувалося, що достовірно частіше температура сягала фебрильних цифр при середньотяжкому перебігу в осіб із мутантними генотипами TLR-3 (75,0 %), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (28,6 %,  $p<0,002$ ). На головний біль при тяжкому перебігу грипу частіше скаржилися хворі із генотипами Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3 (100,0 %, із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 33,3 %,  $p<0,05$ ).

При порівняльному аналізі тривалості основних клінічних симптомів встановлено, що при середньотяжкому перебігу в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 катаральні прояви зберігалися достовірно довше, порівняно з хворими з нормальним розподілом алелей TLR. Так, біль у горлі в осіб із мутантними генотипами TLR-3 тривав  $5,20\pm 0,37$  діб ( $p<0,005$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 –  $4,66\pm 0,66$  ( $p<0,02$ ) (з нормальним розподілом алелей –  $3,0\pm 0,34$ ). Зернистість задньої стінки глотки визначалася у хворих із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 протягом  $4,00\pm 0,26$  діб ( $p<0,05$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 –  $4,66\pm 0,33$  ( $p<0,005$ ) (з нормальним розподілом алелей TLR –  $2,75\pm 0,44$ ). Гіперемія ротоглотки зберігалася достовірно довше в осіб із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $5,00\pm 0,33$ ,  $p<0,05$ ), у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR ( $4,09\pm 0,20$  діб). При аналізі тривалості основних клінічних симптомів у хворих із тяжким перебігом грипу відмінностей не виявлено (табл. 5.1.4).

Середні величини основних загально-клінічних показників крові хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грипу вірогідно не відрізнялися (табл. 5.1.5).

Таблиця 5.1.4

**Тривалість основних клінічних симптомів у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грипу (дні, M±m)**

Симптом	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг		
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=21)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=12)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=8)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)
1	2	3	4	5	6	7
Температурна реакція	4,47±0,29	5,42±0,49	5,00±0,58	5,33±0,33	4,0±0,68	8,00±1,77*
Максимальна температура	3,38±0,29	3,42±0,48	3,33±0,88	3,33±0,33	3,0±0,60	5,75±1,18*
Загальна слабкість	4,61±0,43	5,50±0,51	4,66±0,88	11,00±1,00	10,80±0,66	10,50±2,95
Головний біль	2,00±0,24	3,10±0,50	3,00±1,00	1,25±0,75	3,25±0,59*	5,25±1,79*
Запаморочення	1,33±0,33	1,0±0,71	-	-	1,25±0,25	-

Продовження табл. 5.1.4

1	2	3	4	5	6	7
Нудота	1,33±0,33	-	-	-	1,67±0,33	-
Блювання	1,17±0,16	-	-	-	1,50±0,49	-
Пітливість	3,33±0,24	4,67±0,51*	3,66±0,66	5,33±0,88	4,25±0,41	7,50±1,44
Ломота	2,22±0,28	3,28±0,64	2,50±0,40	2,30±0,68	2,40±0,24	2,50±0,35
Біль у горлі	3,0±0,34	5,20±0,37*	4,66±0,66*	4,33±0,88	4,40±0,82	-
Закладання носа	3,13±0,41	3,28±0,71	-	3,67±1,20	3,50±1,50	7,50±2,47
Кашель	4,94±0,42	5,62±0,70	3,00±0,81	7,33±2,33	6,86±0,77	9,25±1,49
Гіперемія слизової оболонки ротоглотки	4,09±0,20	4,00±0,30	5,00±0,33*	8,66±0,33	8,50±0,26	8,75±2,21
Ін'єкція судин склер	2,50±0,28	2,66±0,21	-	2,67±0,33	3,33±0,33	-
Зернистість задньої стінки глотки	2,75±0,44	4,00±0,26*	4,66±0,33*	-	4,60±0,39	8,66±2,25

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

Таблиця 5.1.5

**Показники периферичної крові у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грипу (M±m)**

Показник	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг		
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=21)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=12)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=8)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)
1	2	3	4	5	6	7
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,16±0,07	4,20±0,17	3,97±0,32	4,27±0,02	4,15±0,08	4,12±0,18
Гемоглобін, г/л	132,28±2,72	131,66±5,81	124,67±12,69	135,66±1,45	130,25±3,93	136,00±9,89
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	6,27±0,55	5,99±0,58	5,77±1,06	6,43±1,42	7,90±0,72	7,37±0,82
Еозинофіли, %	1,05±0,06	1,09±0,09	2,67±1,66	1,33±0,33	1,12±0,12	1,12±0,12
Нейтрофіли:						
паличкоядерні, %	11,24±2,17	16,50±2,72	6,67±1,20	10,00±7,51	12,0±0,26	13,75±6,83
сегментоядерні, %	50,14±3,02	49,58±2,89	49,67±3,93	41,66±5,24	56,75±3,55	57,75±6,06
Лімфоцити, %	29,62±2,54	25,58±3,15	34,33±5,78	28,00±6,36	22,12±1,83	23,50±7,93

*Продовження табл. 5.1.5*

1	2	3	4	5	6	7
Моноцити, %	7,80±1,10	7,33±1,29	6,67±1,45	7,00±2,08	9,62±2,10	4,75±0,62
ШОЕ, мм/год	7,86±0,95	12,91±3,24	8,33±5,84	9,00±3,06	10,62±2,48	10,50±4,21

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

При аналізі змін загальноклінічних лабораторних показників встановлено, що частота їх реєстрації у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 також практично не відрізнялася. У більшості хворих із середньотяжким перебігом грипу (77,8 %) та стовідсотково з тяжким спостерігалися запальні зміни крові, що проявлялися переважно збільшенням кількості ПЯН. Встановлено, що в осіб із мутантними генотипами TLR-3 при тяжкому перебігу грипу частіше, в порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR, визначався паличкоядерний зсув лейкоцитарної формули вліво – 100,0 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 33,3 %,  $p < 0,01$ ), при середньотяжкому – лімфопенія – 50,0 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 19,0 %,  $p < 0,01$ ) (табл. 5.1.6).

При аналізі частоти розвитку пневмонії при грипі встановлено, що у хворих із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 та комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 грип-асоційована пневмонія приєднувалася, вірогідно, частіше (54,4 % і 50,0 % відповідно), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (31,1 %,  $p < 0,03$ , OR=2,62; 95 % CI:1,12-6,12 і  $p < 0,1$ , OR=2,21; 95 % CI:1,65-7,52).

Таким чином, грип в осіб із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 має особливості клінічного перебігу: вірогідно довше тривають основні клінічні симптоми (температура, головний біль, ломота в тілі, біль у горлі, загальна слабкість), переважає середньотяжкий (54,4 % і 42,9 % відповідно) та тяжкий (36,4 % і 57,1 % відповідно) перебіг із високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії (54,2 % і 50,0 % відповідно).

Таблиця 5.1.6

**Зміни показників гемограми у хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грипу абс. число (%)**

Показник	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг		
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=21)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=12)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=8)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)
Запальні зміни крові	15 (71,4)	11 (91,7)	2 (66,7)	3 (100,0)	8 (100,0)	4 (100,0)
Лейкоцитоз	1 (4,8)	1 (8,3)	0	0	2 (25,0)	0
Лейкопенія	1 (4,8)	1 (8,3)	0	1 (33,3)	0	0
Збільшення кількості ПЯН	15 (71,4)	10 (83,3)	2 (66,7)	1 (33,3)	8 (100,0)*	3 (75,0)
Лімфоцитоз	4 (19,0)	1 (8,3)	1 (33,3)	0	0	1 (25,0)
Лімфопенія	4 (19,0)	6 (50,0) *	0	1 (33,3)	4 (50,0)	2 (50,0)
Прискорення ШОЕ	1 (4,8)	3 (25,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	2 (25,0)	1 (25,0)

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)



## 5.2. Клініко-лабораторна характеристика грип-асоційованих пневмоній в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4

Вивчення клініко-лабораторних характеристик грип-асоційованих пневмоній проводили у 49 пацієнтів віком від 18 до 59 років (середній –  $38,75 \pm 1,69$ ), жінок – 55 (56,1 %), чоловіків – 43 (46,9 %). За генотипом вони розподілилися наступним чином: із Leu/Phe TLR-3 – 18, Phe/Phe TLR-3 – 8, Arg/Gln TLR-2 – 1, Asp/Gly TLR-4 – 1, комбінаціями поліморфнозмінених генотипів досліджуваних TLR – 7 осіб. Отримані результати порівнювали з даними 14 здорових із нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 рівноцінними за статтю і віком.

Аналіз даних клінічного обстеження показав, що більшість хворих як із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, так і з нормальним розподілом алелей TLR, госпіталізувалася на першому тижні захворювання (рис. 5.2.1).

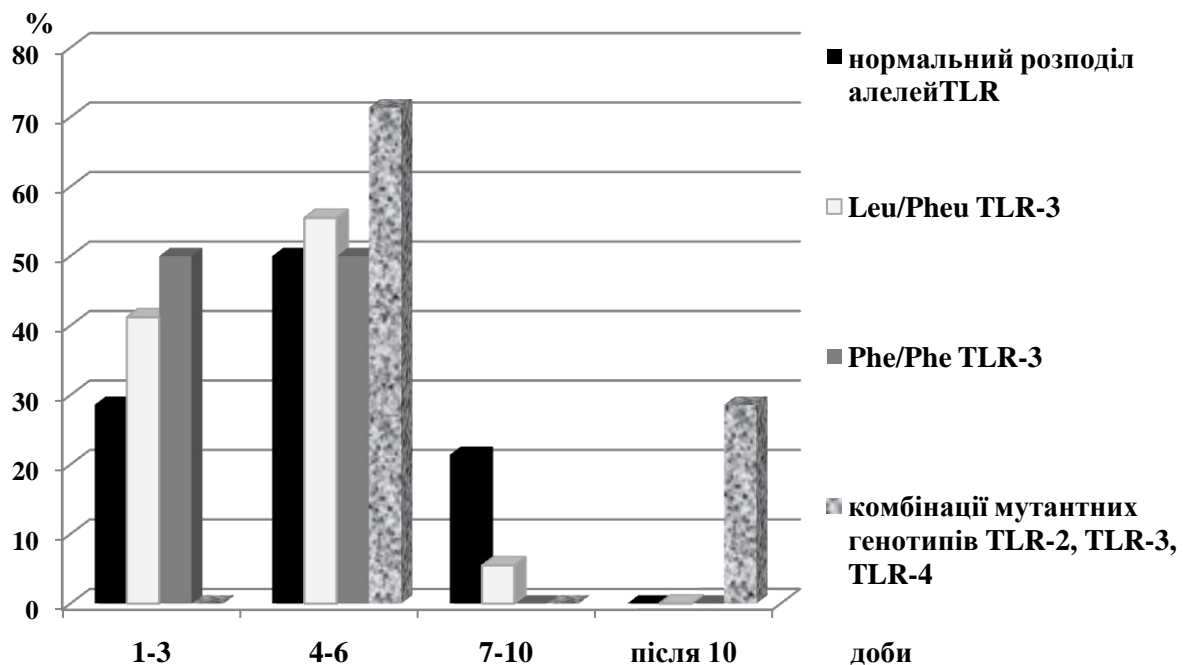


Рис. 5.2.1 Терміни госпіталізації хворих з грип-асоційованою пневмонією

Як видно з рис. 5.2.1, у перші три доби захворювання до стаціонару поступили 7 (38,9 %) хворих із генотипом Leu/Phe TLR-3, 5 (50,0 %) з Phe/Phe TLR-3 та 4 (28,6 %) із нормальним розподілом алелей TLR. На 4-6 добу госпіталізовані 10 (55,6 %) пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3, 4 (50,0 %) з Phe/Phe TLR-3, 5 (71,4 %) з комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 7 (50,0 %) із нормальним розподілом алелей TLR. Загалом на першому тижні було госпіталізовано 31 (88,6 %) пацієнт із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 11 (78,6 %) із нормальним розподілом алелей генів TLR. На другому тижні госпіталізовані 2 (28,6 %) хворих із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4, 1 (5,5 %) з генотипом Leu/Phe TLR-3 та 3 (21,4 %) із нормальним розподілом алелей генів TLR.

При аналізі догоспітального етапу встановлено, що в осіб із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 достовірно раніше, в порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей, відмічалася поява задухи – клінічної ознаки пневмонії: з генотипом Phe/Phe TLR-3 на  $2,71 \pm 0,18$  добу ( $p < 0,01$ ), Leu/Phe –  $3,33 \pm 0,17$ , ( $p < 0,02$ ), комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 –  $2,66 \pm 0,33$  ( $p < 0,02$ ), з нормальним розподілом алелей TLR –  $5,33 \pm 0,88$ . Тяжкість стану та поява задухи стали причиною більш раннього звернення за медичною допомогою осіб із мутантними генотипами Phe/Phe TLR-3 (Leu/Phe –  $2,91 \pm 0,39$  і Phe/Phe –  $2,86 \pm 0,63$  добу,  $p < 0,05$ ) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $2,66 \pm 0,88$ ,  $p < 0,05$ ) (з нормальним розподілом алелей TLR-2 –  $3,66 \pm 0,33$ ). Слід відмітити, що при первинному зверненні за медичною допомогою у 8 із 10 пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 тяжкість стану була недооцінена і пневмонія не розпізнана; як наслідок – хворі госпіталізовані лише після повторного огляду: з генотипом Leu/Phe на  $(4,27 \pm 0,63)$  добу, Phe/Phe –  $(4,14 \pm 0,83)$ , комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 –  $(4,66 \pm 0,66)$ , а рентгенографія органів грудної клітини проведена на

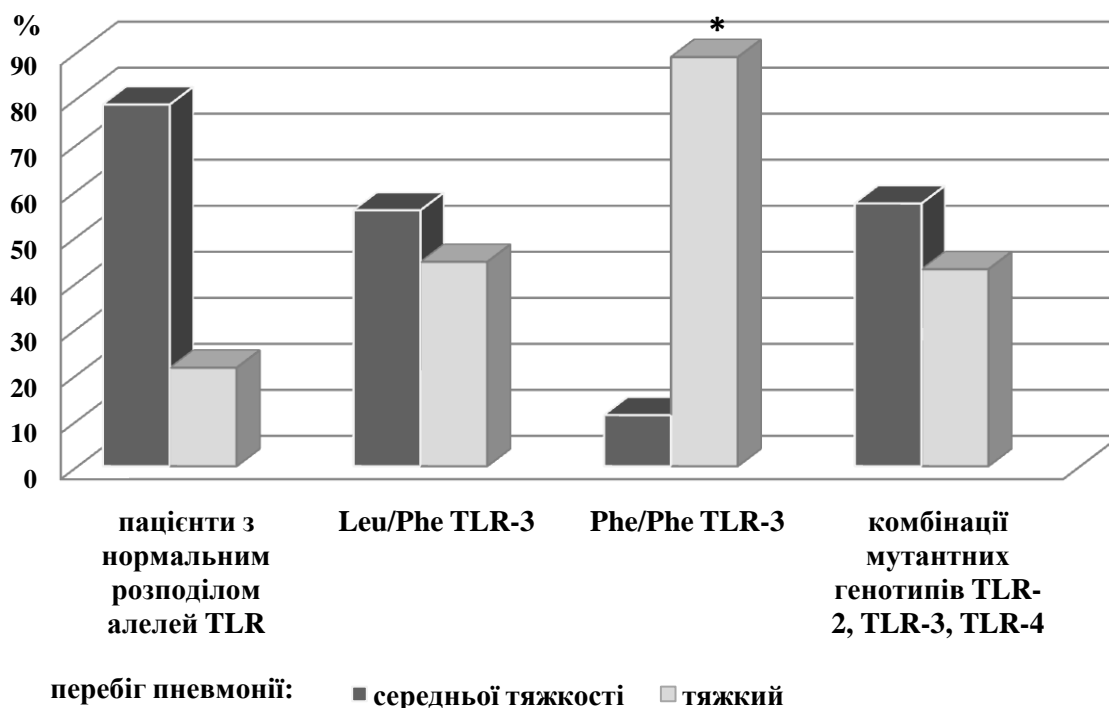
(4,88±0,62), (4,86±0,73) та (5,33±0,88) добу відповідно. При цьому на момент госпіталізації надання допомоги у відділенні інтенсивної терапії потребували 88,9 % хворих із генотипом Phe/Phe TLR-3, 44,4 % з Leu/Phe та 42,8 % із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (з нормальним розподілом алелей TLR – 21,4 %).

На догоспітальному етапі хворі отримували переважно симптоматичну терапію – 34 (69,4 %), противірусну та антибактеріальну призначали в поодиноких випадках – 6 (12,2 %) і 9 (18,4 %) пацієнтів відповідно. Противірусна терапія призначалася в середньому на (2,83±0,40) добу, при цьому в жодному випадку не застосовувалися інгібітори нейрамінідази. Із противірусних препаратів на догоспітальному етапі призначалися: у чотирьох випадках – арбідол, по одному – ремантадин та інгаверин. Серед пацієнтів, які отримували противірусну терапію, 3 із 6 мали поліморфнозмінені генотипи досліджуваних TLR, з них в одного діагностували первинну вірусну пневмонію, у двох – вторинну вірусно-бактеріальну. У пацієнтів із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, яким призначалися противірусні препарати, діагностували лише вторинну вірусно-бактеріальну та бактеріальну пневмонії. При призначенні противірусних препаратів в осіб як із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4, перебіг грип-асоційованих пневмоній був середньої тяжкості.

Таким чином, проведений аналіз догоспітального етапу свідчить, що ускладнення грипу пневмонією у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 розвинулося переважно в перші 3 доби захворювання та, незважаючи на раннє звернення за медичною допомогою, було не розпізнане, що стало причиною пізньої госпіталізації, відтермінованого призначення противірусної терапії та, як наслідок, – тяжкого перебігу грип-асоційованої пневмонії.

Тяжкість стану пацієнтів на момент госпіталізації та визначення потреби в респіраторній підтримці і вазопресорах проводили за шкалою

SMRT-CO. Так, тяжкий перебіг грип-асоційованої пневмонії з сумою балів за оціночною шкалою 3 і більше мали 21 (42,8 %) хворий, які потребували лікування у відділення інтенсивної терапії. Перебіг середньої тяжкості діагностували у 28 (57,1 %) пацієнтів, стан яких оцінювали в 2 бали і менше за шкалою SMRT-CO. Слід відмітити, що серед хворих із тяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії лише 3 із 21 мали нормальний розподіл алелей генів досліджуваних TLR (при середньотяжкому – 11 із 28). Найбільш поширеним серед пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній виявився поліморфізм Leu412Phe TLR-3, який визначали у 18 (85,7 %) пацієнтів, що виявилось вірогідно частіше, ніж у хворих із середньотяжким перебігом – 15 (53,6 %,  $p < 0,02$ ). У цілому, при тяжкому перебігу пневмонії «дикий тип» генотипу Leu/Leu TLR-3 діагностували лише у 14,3 %, гетерозиготний Leu/Phe – у 52,4 %, мутантний гомозиготний Phe/Phe – у 33,3 % обстежених (при середньо тяжкому перебігу – 46,4 %, 46,4 %, 7,1 % відповідно). Частоти «дикого типу» Asp/Asp і мутантного гетерозиготного Asp/Gly генотипів TLR-4 у хворих із середньотяжким і тяжким перебігом пневмонії не відрізнялися (85,7 % і 14,3 %). Аналогічно розподілилися серед обстежених пацієнтів і генотипи TLR-2 Arg/Arg та Arg/Gln (92,9 % і 7,1 % та 95,2 % і 4,8 %). Слід зазначити, що поліморфізм Asp299Gly гену TLR-4 та Arg753Gln гену TLR-2 зазвичай діагностували в комбінації з мутацією в гені TLR-3, за винятком двох пацієнтів, тому оцінити вплив кожного з них окремо на перебіг пневмонії було не можливо. Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих із середньотяжким і тяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії визначалися з однаковою частотою – по 14,3 %. При порівняльному аналізі тяжкості перебігу грип-асоційованої пневмонії в осіб із поліморфнозміненими генотипами досліджуваних TLR та нормальним розподілом алелей встановлено, що тяжкий перебіг вірогідно частіше реєструвався в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 (85,7 %, із нормальним розподілом алелей TLR – 21,4 %,  $p < 0,002$ ) (рис. 5.2.2).



**Рис. 5.2.2 Розподіл хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 за тяжкістю перебігу грип-асоційованої пневмонії**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Загалом у хворих із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 тяжкий перебіг грип-асоційованих пневмоній визначали в 2 рази частіше – у 44,4 % і 42,8 %, але вірогідної різниці, в порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей генів, досліджуваних TLR не виявлено.

Аналіз клінічних характеристик грипу, проведений на підставі клініко-анамнестичних даних на момент госпіталізації у стаціонар, показав, що в усіх хворих грип перебігав типово з синдромом інтоксикації та ураженням дихальних шляхів. В усіх випадках початок хвороби був гострим з ознобу та підвищення температури до 38°C – у 30,6 % хворих, 38,1-39,0°C – 44,9 %, вище 39°C – 24,5 %. Із перших днів у пацієнтів із грип-асоційованою

пневмонією одночасно з симптомами інтоксикації (головним болем (48,9 %), запамороченням (24,5 %), болем у суглобах та м'язах (34,7 %), нудотою (14,3 %) та блюванням (8,2 %) з'являвся сухий кашель (100,0 %). Кашель супроводжувався болем у грудях за ходом трахеї (53,1 %), дряпанням та болем у горлі (18,4 %). На нежить вказували 30,6 % пацієнтів. Дискомфорт в області живота і діарею, яка розвивалась на 2-3 добу від початку хвороби, відмічали 6,1 % хворих. Погіршення стану, що свідчило про приєднання пневмонії, настало на 1-10 добу від початку хвороби і проявлялося посиленням непродуктивного кашлю (100,0 %), приєднанням задухи (57,1 %), появою болю в грудній клітці (42,9 %), акроціанозу шкіри (36,7 %), харкотиння кров'янистого характеру (10,2 %), зниженням показника сатурації ( $SpO_2$ ) нижче 93-94 % (59,2 %).

При аналізі скарг хворих та частоти їх реєстрації на момент госпіталізації в пацієнтів із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грип-асоційованої пневмонії суттєвих відмінностей не виявлено. Проте, на головний біль та біль у грудній клітині при середньотяжкому перебігу частіше скаржилися пацієнти з мутантними генотипами TLR-3 (100,0 % і 81,8 %, із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 – по 27,3 %  $p < 0,001$  і  $p < 0,02$  відповідно) (табл. 5.2.1). При аналізі тривалості основних клінічних симптомів грип-асоційованих пневмоній достовірних відмінностей між пацієнтами з поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 як при середньотяжкому, так і тяжкому перебігу також не виявлено (табл. 5.2.2).

Таблиця 5.2.1

**Основні клінічні симптоми у хворих із середньотяжким та тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, абс. число (%)**

Симптом		Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг			
		Нормальний розподіл алелей TLR (n=11)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=11)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1		2	3	4	5	6	7	8
Температура	37-37,9°C	5 (45,4)	5 (45,4)	0 (0,0)	2 (66,7)	2 (25,0)	3 (42,9)	0 (0,0)
	38-38,9°C	3 (27,3)	3 (27,3)	3 (75,0)	1 (33,3)	4 (50,0)	4 (57,1)	3 (100,0)
	≥39°C	3 (27,3)	3 (27,3)	1 (25,0)	0 (0,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Загальна слабкість		11 (100,0)	11 (100,0)	4 (100,0)	3 (100,0)	8 (100,0)	7 (100,0)	3 (100,0)
Головний біль		3 (27,3)	11 (100,0)*	2 (50,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	1 (14,3)	1 (33,3)
Запаморочення		1 (9,1)	3 (27,3)	1 (25,0)	0 (0,0)	1(12,5)	0 (0,0)	1 (33,3)
Пітливість		11 (100,0)	11 (100,0)	4 (100,0)	3 (100,0)	8(100,0)	7 (100,0)	3 (100,0)

Продовження табл. 5.2.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Ломота	4 (36,4)	4 (36,4)	1 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Біль у горлі	4 (36,4)	6 (54,5)	1 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Закладання носа	3 (27,3)	4 (36,4)	2 (50,0)	0 (0,0)	2 (25,0)	1 (14,3)	0 (0,0)
Кашель:	11 (100,0)	11 (100,0)	4 (100,0)	3 (100,0)	8 (100,0)	7 (100,0)	3 (100,0)
сухий	8 (72,7)	8 (72,7)	2 (50,0)	2 (66,7)	6 (75,0)	7 (100,0)	2 (66,7)
вологий	3 (27,3)	3 (27,3)	2 (50,0)	1 (33,3)	2 (25,0)	0 (0,0)	1 (33,3)
Кров'янисте харкотиння	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (37,5)	0 (0,0)	1 (33,3)
Задуха:	3 (27,3)	3 (27,3)	2 (50,0)	3 (100,0)	8 (100,0)	7 (100,0)	3 (100,0)
помірна	3 (100,0)	3 (100,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
виражена	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (66,6)	4 (50,0)	3 (42,9)	1 (33,3)
в спокої	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (33,3)	4 (50,0)	4 (57,1)	2 (66,7)
Біль в грудній клітині	3 (27,3)	9 (81,8)*	2 (50,0)	1(33,3)	2 (25,0)	3 (42,9)	2 (66,7)

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)



Таблиця 5.2.2

**Тривалість основних клінічних симптомів у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 залежно від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній (дні, M±m)**

Симптом	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=11)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=11)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1	2	3	4	5	6	7	8
Температурна реакція	4,36±1,05	4,00±0,63	3,25±0,75	6,33±3,93	5,62±1,48	9,00±3,49	9,00±3,21
Максимальна температура	2,00±0,30	1,80±0,37	1,25±0,25	4,66±3,67	2,87±0,93	2,57±0,89	6,00±2,08
Загальна слабкість	12,72±1,46	11,73±0,70	8,50±1,75	15,00±8,74	15,00±2,11	17,71±2,86	13,33±4,45
Головний біль	2,00±0,54	2,45±0,25	2,50±0,49	-	2,75±0,62	3,75±1,18	-
Запаморочення	-	2,66±0,36	-	-	2,00±0,40	3,50±1,79	-
Пітливість	6,18±0,69	7,64±0,43*	5,25±0,62	7,50±3,67	9,00±1,36	14,43±2,40	9,33±3,18

Продовження табл. 5.2.2

1	2	3	4	5	6	7	8
Ломота	1,80±0,74	2,12±0,12	-	-	1,75±0,25	2,66±0,33	-
Біль у горлі	4,00±0,70	3,33±0,16	-	-	2,50±0,49	3,50±1,46	-
Закладання носа	4,00±1,00	3,33±0,18	4,50±0,50	-	3,33±0,33	3,50±1,78	-
Кашель	10,54±1,91	10,90±1,06	7,50±2,10	11,00±5,69	14,87±2,07	16,57±2,80	13,00±4,33
Задуха	2,33±0,66	3,00±0,60	3,00±1,00	9,00±5,03	6,25±0,73	12,28±3,56	8,33±1,85
Біль в грудній клітині	5,00±2,07	4,66±1,01	2,00±1,00	-	4,25±0,25	2,66±0,66	2,50±0,49

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

При об'єктивному обстеженні локальні перкуторні та аускультативні зміни в легенях визначалися у 44 (89,8 %) пацієнтів. Скорочення перкуторного звуку з однієї сторони було виявлено у 26 (59,1 %), з обох сторін – у 18 (40,9 %). У більшості хворих (80,8 %) визначалося ослаблене дихання, жорстке – у 14,9 %. Сухі хрипи вислуховувалися у 10 (21,3 %) пацієнтів, вологі – 19 (40,4 %), крепітація – 15 (31,9 %).

У 36 (76,6 %) хворих систолічний артеріальний тиск (АТ) визначався в межах норми, у 6 (12,8 %) – був підвищений до 140-160 мм рт. ст., у 5 (10,6 %) – знижений до 90-80 мм рт. ст. Знижений АТ реєстрували переважно (60,0 %) при тяжкому перебігу пневмонії. У 76,9 % пацієнтів із середньотяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії та 95,2 % з тяжким відмічалася тахікардія, у решти (23,1 % та 4,8 % відповідно) – частота серцевих скорочень (ЧСС) була в межах норми. Частота дихальних рухів (ЧДР) зростала залежно від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній та характеризувала ступінь дихальної недостатності. Так, при середньотяжкому перебігу у 19 (73,1 %) пацієнтів ЧДР реєстрували >20 за хв., у 7 (26,9 %) – в межах 25-30 за хв. При тяжкому перебігу в 14 (66,7 %) ЧДР складала 35-40, у 7 (33,3 %) – більше 40 за хв. На підставі клінічних (задуха, ціаноз, ЧСС, ЧДР) та інструментальних ( $SpO_2$ ,  $PaO_2$ ) даних дихальну недостатність першого ступеню мали 7 (14,9 %) пацієнтів, другого – 14 (29,8 %), третього – 7 (14,9 %).

Аналіз даних об'єктивного обстеження пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній представлений в табл. 5.2.3. Як видно з даних таблиці 5.2.3, знижений АТ як при тяжкому, так і середньотяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній реєстрували лише в осіб із поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3, що є відображенням вираженості інтоксикаційного синдрому у цієї категорії пацієнтів.

Таблиця 5.2.3

**Дані об'єктивного обстеження пацієнтів із середньотяжким та тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній з поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 при госпіталізації, абс. число (%)**

Симптом	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=11)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=11)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1	2	3	4	5	6	7	8
Перкуторний звук: легеневий притуплення	1 (9,1) 10 (90,9)	0 (0,0) 11 (100,0)	0 (0,0) 4 (100,0)	0 (0,0) 3 (100,0)	2 (25,0) 6 (75,0)	0 (0,0) 7 (100,0)	0 (0,0) 3 (100,0)
Дихання: везикулярне жорстке	0 (0,0) 1 (9,1)	0 (0,0) 2 (18,2)	0 (0,0) 0 (0,0)	0 (0,0) 1 (33,3)	0 1 (12,5)	0 (0,0) 2 (28,6)	0 (0,0) 0 (0,0)

Продовження табл. 5.2.3

1	2	3	4	5	6	7	8
ослаблене	10 (90,9)	9 (81,8)	4 (100,0)	2 (66,7)	5 (50,0)	5 (71,4)	3 (100,0)
Хрипи:							
відсутні	1 (9,1)	1 (9,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
сухі	5 (45,4)	4 (36,4)	1 (25,0)	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0 (0,0)
вологі	2 (18,2)	4 (36,4)	2 (50,0)	2 (66,7)	3 (37,5)	4 (57,1)	2 (66,7)
крепітація	3 (27,3)	2 (18,2)	1 (25,0)	1 (33,3)	4 (50,0)	3 (42,9)	1 (33,3)
Систолічний АТ:							
нормальний	10 (90,9)	10 (90,9)	2 (50,0)	3 (100,0)	5 (71,4)	5 (71,4)	1 (33,3)
підвищений	1 (9,1)	1 (9,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	1 (14,3)	2 (66,7)
знижений	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (50,0) *	0 (0,0)	2 (25,0)	1 (14,3)	0 (0,0)
ЧСС:							
нормокардія	4 (36,4)	2 (18,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (33,3)
тахікардія	7 (63,6)	9 (81,8)	4 (100,0)	3 (100,0)	8 (100,0)	7 (100,0)	2 (66,7)
брадикардія	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4

При середньотяжкому перебігу гіпотонія вірогідно частіше мала місце у пацієнтів із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (50,0 %), у порівнянні з обстеженими з нормальним розподілом алелей генів (0,0 %,  $p < 0,05$ ).

При порівнянні середніх величин показників ЧСС, ЧДР, АТ, SpO<sub>2</sub> в динаміці в пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 залежно від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній виявлено відмінності. Так, при середньотяжкому перебігу на момент госпіталізації ЧДР була вірогідно більшою в осіб із генотипами Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3 ( $20,36 \pm 0,75$ ), порівняно з пацієнтами з нормальним розподілом алелей ( $19,63 \pm 0,64$ ,  $p < 0,05$ ), ЧСС – при комбінаціях поліморфнозмінених генотипів ( $110,75 \pm 1,79$ , при нормальному розподілі алелей –  $97,27 \pm 4,93$ ,  $p < 0,02$ ). На 7-10 добу при середньотяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 визначалися нижчі показники SpO<sub>2</sub> ( $97,73 \pm 0,43$ , при нормальному розподілі алелей –  $98,45 \pm 0,21$ ,  $p < 0,1$ ) (табл. 5.2.4).

За даними рентгенологічного дослідження легень вогнищево-зливна пневмонія виявлена у 3 (6,4 %), сегментарна – у 6 (12,8 %), дольова – у 27 (57,4 %) пацієнтів. У 11 (23,4 %) обстежених пневмонічна інфільтрація охоплювала більше, ніж дві долі. Правобічна локалізація пневмонії виявлена у 16 (34,0 %), лівобічна – у 8 (17,0 %), двобічне ураження легень – у 23 (48,9 %). У пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній вірогідно частіше виявляли субтотальне і тотальне поширення запальної інфільтрації в легенях (52,4 %,  $p < 0,00001$ ) та двобічну локалізацію процесу (76,2 %,  $p < 0,001$ ), у порівнянні з середньотяжким (0,0 % і 28,6 % відповідно).

При аналізі результатів рентгенологічного дослідження, обстежених із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, виявлено відмінності (табл. 5.2.5).

Таблиця 5.2.4

**Динаміка середніх величин показників ЧСС, ЧДР, АТ, SpO<sub>2</sub> у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 залежно від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній (M±m)**

Показник	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=11)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=11)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1	2	3	4	5	6	7	8
1-3 доба госпіталізації							
ЧСС за хв	97,27 ±4,93	100,45±3,42	110,75±1,79*	113,33±3,53	108,37±3,17	109,71±2,21	95,0±8,39 °
ЧДР за хв	19,63±0,64	20,36±0,75 *	20,00±0,91	29,0±0,57	28,12±1,23	28,14±1,08	28,0±5,29
Систолічний АТ, мм рт. ст.	121,36±6,76	119,54±6,13	111,25±11,61	116,66±3,33	118,75±9,89	106,43±12,1	143,33±12,03 *
SpO <sub>2</sub>	96,54±0,60	95,90±0,53	95,50±0,64	80,33±4,41	85,0±3,02	86,71±1,34	80,33±8,17

Продовження табл. 5.2.4

1	2	3	4	5	6	7	8
4-6 доба госпіталізації							
ЧСС за хв	80,63±1,93	82,27±1,38	81,75±1,93	92,00±1,15	86,87±5,46	87,57±7,78	95,33±6,77
ЧДР за хв	18,45±0,43	18,45±0,07	18,50±0,50	30,00±4,17	27,12±1,92	26,57±2,65	28,00±1,16
Систолічний АТ, мм рт. ст.	119,09±5,62	111,81±2,72	121,25±3,14	123,33±8,83	120,62±2,39	115,71±6,51	125,0±10,40
SpO <sub>2</sub>	97,54±0,31	97,36±0,60	97,50±0,64	94,00±7,02	93,87±3,87	92,28±3,53	92,00±5,29
7-10 доба госпіталізації							
ЧСС за хв	81,54±2,23	77,00±1,19	74,00±2,00	87,33±3,33	76,00±3,49	82,00±3,91	79,33±1,32
ЧДР за хв	18,09±0,28	18,09±0,09	17,50±0,49	21,33±0,66	19,33±0,42	22,42±1,34	22,33±1,85
Систолічний АТ, мм рт. ст.	119,54±5,07	114,54±3,19	117,50±2,50	116,66±3,33	120,00±4,65	121,43±5,43	126,66±6,67
SpO <sub>2</sub>	98,45±0,21	97,73±0,43°	98,50±0,49	96,33±7,69	94,50±0,42	92,14±3,40	92,66±6,18

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)



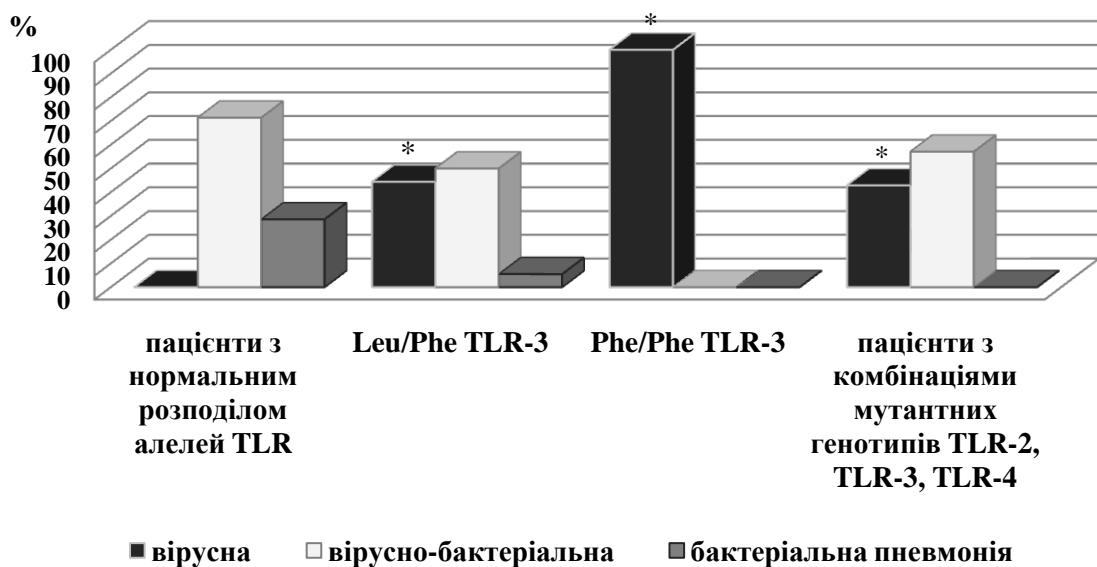
Таблиця 5.2.5

**Локалізація патологічного процесу в легенях у хворих із грип-асоційованою пневмонією з мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, абс. число (%)**

Генотип	Локалізація процесу в легенях	Однобічне ураження	Двобічне ураження	F p ≤	OR (95 % CI)	Ураження однієї долі	Багатодольове ураження	F p ≤	OR (95 % CI)
Нормальний розподіл алелей TLR (n=14)		11 (78,6)	3 (21,4)	-	-	12 (85,7)	2 (14,28)	-	-
TLR-3 Leu/Phe (n=18)		10 (55,6)	8 (44,4)	0,2892	2,5 (0,57-11,01)	17 (94,4)	1 (5,6)	0,5681	0,35 (0,03-4,35)
TLR-3 Phe/Phe (n=8)		2 (25,0)	6 (75,0)	0,0260*	11,0 (1,42-85,2)	3 (37,5)	5 (62,5)	0,0523*	10,0 (1,26-79,34)
Комбінації поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=7)		1 (14,3)	6 (85,7)	0,0157*	22,0 (1,86-260,66)	4 (57,1)	3 (42,9)	0,2800	4,5 (0,54-37,38)
p*	-	рівень	значимості	отриманий	за	точним	тестом	Фішера	

Так, двобічне ураження легень достовірно частіше виявляли в пацієнтів із мутантним генотипом Phe/Phe TLR-3 (75,0 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (85,7 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 21,4 %,  $p < 0,02$  і  $p < 0,01$  відповідно), багатодольову інфільтрацію в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 – 62,5 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 14,3 %,  $p < 0,05$ ).

При аналізі перебігу пневмонії у хворих на грип встановлено, що від наявності поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 залежав також етіологічний чинник розвитку грип-асоційованих пневмоній. За сукупністю клініко-лабораторних та рентгенологічних даних, проведених в динаміці, а також з урахуванням результатів вірусологічного і бактеріологічного дослідження змивів із носу, ротоглотки, харкотиння, первинну вірусну пневмонію було діагностовано у 19 (38,8 %) пацієнтів, вторинну вірусно-бактеріальну – у 25 (51,0 %), бактеріальну – у 5 (10,2 %).



**Рис. 5.2.3 Розподіл хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від етіологічного чинника грип-асоційованих пневмоній**

Примітка. \*–  $p < 0,05$ , у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Як видно з рисунка 5.2.3 первинну вірусну пневмонію верифікували виключно (100,0 %) у пацієнтів із поліморфізмом Leu412Phe гену TLR-3: з генотипом Leu/Phe – у 44,4 % ( $p < 0,004$ ), Phe/Phe TLR-3 – 100,0 % ( $p < 0,000003$ ), з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 – 42,9 % ( $p < 0,02$ ).

Згідно з коефіцієнтом відношення шансів ризик розвитку вірусної пневмонії при грипі в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 вищий у 18,9 (OR=18,91; 95 % CI:1,00-367,01), Phe/Phe TLR-3 у 49,3 (OR=49,3; 95 % CI:8,93-27198,22), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у 22,5 разу (OR=22,55; 95 % CI:1,01-524,43), у порівнянні з носіями нормальних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Первинна вірусна пневмонія розвивалася на 1-3 добу від початку захворювання на грип і відрізнялася від вторинної вірусно-бактеріальної та бактеріальної пневмонії переважно тяжким перебігом (63,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 26,1 %,  $p < 0,02$ , бактеріальній – 40,0 %,  $p < 0,1$ ), високою частотою двобічного (63,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 39,1 %,  $p < 0,05$ , бактеріальній – 20,0 %,  $p < 0,1$ ), багаточасткового ураження легень (47,4 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 4,3 %,  $p < 0,002$ , бактеріальній – 20,0 %,  $p < 0,1$ ), вірогідно довшою тривалістю кисневої залежності – ( $9,08 \pm 0,77$ ) діб (при вторинній вірусно-бактеріальній – ( $7,57 \pm 0,52$ ), бактеріальній – ( $5,50 \pm 1,76$ ),  $p < 0,05$ ), розвитком ГРДС (36,8 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %,  $p < 0,001$ , бактеріальній – 20,0 %,  $p < 0,1$ ) та поліорганної недостатності (42,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %,  $p < 0,0006$ , бактеріальній пневмонії – 20,0 %,  $p < 0,1$ ), вищою летальністю (21,0 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %,  $p < 0,02$ ).

Слід відмітити, що серед пацієнтів із первинною вірусною пневмонією тяжкий перебіг вірогідно частіше мав місце в осіб генотипом Phe/Phe TLR-3 (87,5 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями генотипу Leu/Phe TLR-3 (25,0 %,  $p < 0,0006$ ).

$p < 0,04$  OR=21,0; 95 % CI:1,5-293,27 і  $p < 0,05$ , OR=18,2; 95 % CI:1,6-494,83 відповідно).

Вторинна вірусно-бактеріальна пневмонія характеризувалася переважно перебігом середньої тяжкості (73,9 % обстежених) і діагностувалася як у хворих із поліморфізмом досліджуваних генів TLR (42,8 %), так і у пацієнтів із нормальним розподілом алелей (71,4 %). Проте, встановлено, що тяжкий перебіг вірусно-бактеріальної пневмонії, вірогідно, частіше мав місце в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 (55,6 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (50,0 %) у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей генів (10,0 %,  $p < 0,05$ , OR=11,25; 95 % CI:1,9-130,23 і  $p < 0,05$ , OR=24,0; 95 % CI:1,2-426,57), як і двобічне ураження легень: при генотипі Leu/Phe TLR-3 – 55,6 %, комбінаціях поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 75,0 %, (при нормальному розподілі алелей генів – 10,0 %,  $p < 0,05$ , OR=11,25; 95 % CI:1,9-130,23 і  $p < 0,04$  OR=27,0; 95 % CI:1,26-578,39 відповідно).

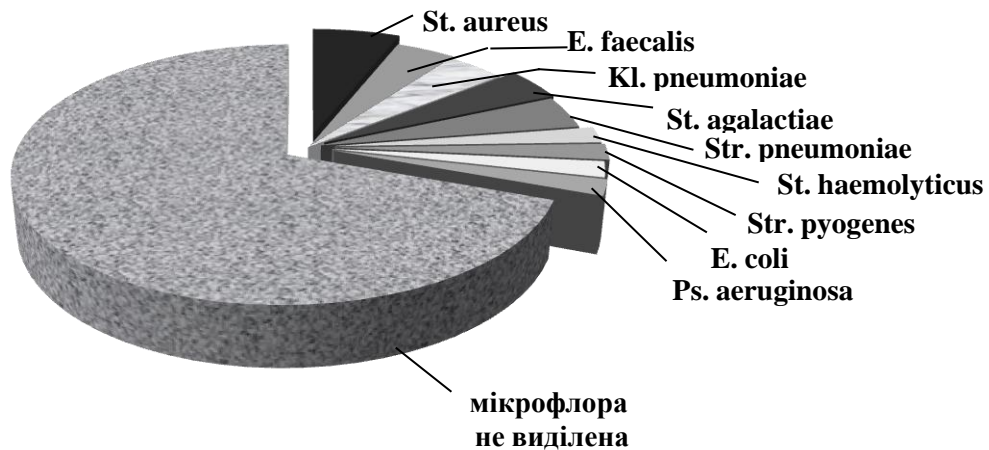
Бактеріальна пневмонія діагностувалася у 10,2 % хворих, мала переважно перебіг середньої тяжкості (60,0 %) і була верифікована лише у 2,8 % пацієнтів із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3 TLR-4 – у 28,6 %). Проаналізувати детально перебіг бактеріальної пневмонії було не можливо у зв'язку з незначною кількістю пацієнтів.

При аналізі перебігу грип-асоційованих пневмоній залежно від етіологічного чинника грипу встановлено, що вірус A/H1N1 виявлявся у 33 (67,3 %), A/H3N2 – у 14 (28,6 %), B – у 2 (4,1 %). У подальшому виявилось за доцільне встановити зв'язок етіології грип-асоційованої пневмонії, тяжкості її перебігу та наслідків із певним типом вірусу, а також дослідити вплив поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на тяжкість перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від збудника грипу. Проведені дослідження показали, що частота тяжкого перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від підтипу вірусу грипу A вірогідно не відрізнялася і

склала при грипі А/Н1N1 – 42,4 %, А/Н3N2 – 50,0 %. При грипі В у хворих реєструвався лише перебіг середньої тяжкості. Дослідження зв'язку етіології грип-асоційованої пневмонії з певним серотипом вірусу грипу асоціації не виявило. Первинну вірусну пневмонію при грипі А/Н1N1 діагностували у 12 (36,4 %), А/Н3N2 – у 6 (42,8 %), В – у 1 (50,0 %) пацієнта, вторинну вірусно-бактеріальну у 19 (57,6 %), 5 (37,5 %), та 1 (50,0 %) відповідно. Бактеріальну пневмонію верифікували при грипі А/Н1N1 у 2 (6,1 %) пацієнтів, А/Н3N2 – у 3 (21,4 %). Летальність при грип-асоційованій пневмонії, яка ускладнювала перебіг грипу А/Н1N1 склала 21,4 %, що виявилось у 3,5 разу вище, в порівнянні з А/Н3N2 – 6,1 %, проте вірогідної різниці між показниками не було.

При вивченні впливу поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на тяжкість перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від збудника грипу встановлено, що тяжкий перебіг пневмонії при грипі А/Н1N1 достовірно частіше мали особи з гомозиготним генотипом Phe/Phe TLR-3 – 85,7 % (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 22,2 %,  $p < 0,04$ , OR=21; 95 % CI:1,5-293,27). У пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3 тяжкий перебіг виявлявся у 2,0 рази частіше – у 45,5 %, проте вірогідної різниці з носіями нормальних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 не виявлено. Пневмонія при грипі А/Н3N2 мала тяжкий перебіг у 50,0 % пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3, у 100,0 % з Phe/Phe TLR-3 і комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 та у 25,0 % із нормальним розподілом алелей TLR. При грипі В стовідсотково відмічався перебіг пневмонії середньої тяжкості.

При бактеріологічному дослідженні харкотиння бактеріальна мікрофлорафлора виявлена у 15 (30,6 %) пацієнтів, з них у 20,0 % – *St. aureus*, у 13,3 % – *Kl. pneumonia*, *E. faecalis*, *St. agalactiae*, *Str. pneumonia*, у 6,7 % – *St. haemolyticus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa* (рис. 5.2.4).



**Рис. 5.2.4 Спектр виділених мікроорганізмів при бактеріологічному дослідженні харкотиння хворих на грип-асоційовані пневмонії**

Аналіз мікробного пейзажу в залежності від генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 показав, що частіше мікрофлора в харкотинні виділялася в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 (33,3 %) та нормальним розподілом алелей TLR (42,8 %) (табл. 5.2.6).

*Таблиця 5.2.6*

**Визначення мікрофлори в харкотинні пацієнтів із грип-асоційованими пневмоніями з поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, абс. число (%)**

Збудник	Генотип			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=14)	TLR-3 Leu/Phe (n=18)	TLR-3 Phe/Phe (n=8)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=7)
1	2	3	4	5
<i>St. aureus</i>	1 (7,1)	2 (11,1)	0	0
<i>E. faecalis</i>	1 (7,1)	1 (5,5)	0	0

## Продовження табл. 5.2.6

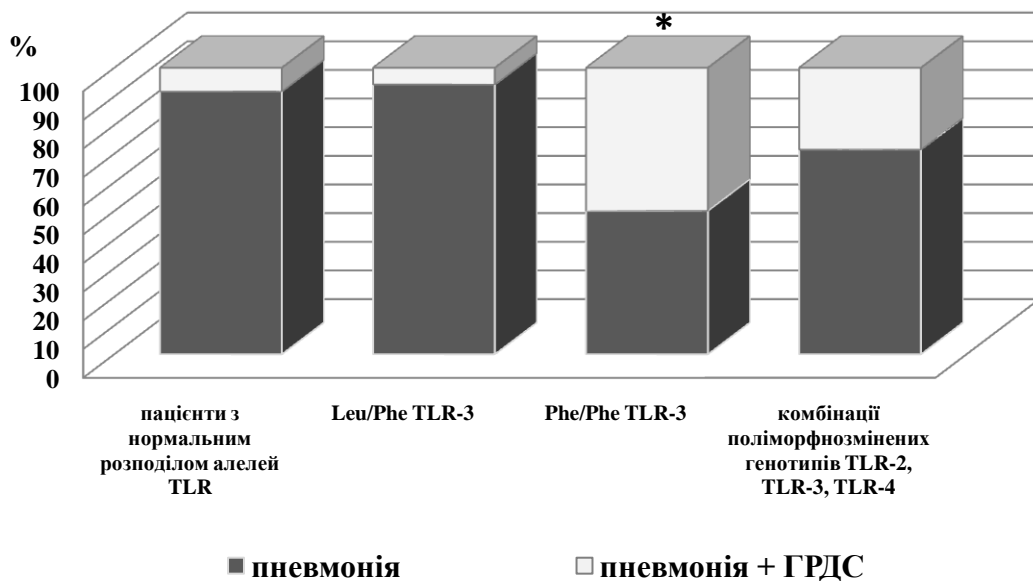
1	2	3	4	5
Kl. pneumoniae	2 (14,3)	0	0	0
St. agalactiae	1 (7,1)	1 (5,5)	0	0
Str. pneumoniae	1 (7,1)	0	0	1 (14,3)
St. haemolyticus	0	1 (5,5)	0	0
Str. pyogenes	0	0	0	1 (14,3)
E. coli	0	1 (5,5)	0	0
Ps. aeruginosa	0	0	1 (12,5)	0
Разом	6 (42,8)	6 (33,3)	1 (12,5)	2 (28,6)

Слід відмітити, що серед обстежених із генотипом Phe/Phe TLR-3 лише в одного пацієнта, який перебував на штучній вентиляції легень, виділилася мікрофлора із харкотиння, а саме Ps. aeruginosa. Тобто, отримані дані підтверджують переважно первинне вірусне ураження легень у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами, а виділення Ps. aeruginosa свідчить про можливе інфікування внутрішньолікарняною мікрофлорою. Асоціацію поліморфнозмінених генотипів із окремими збудниками грип-асоційованої пневмонії не виявлено.

Таким чином, проведені дослідження показали, що тяжкий перебіг грипу визначався не стільки етіологічним чинником, скільки генетичними особливостями макроорганізму.

У всіх пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній визначали симптомокомплекс синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ). Ознаки ССЗВ визначалися з частотою: тахіпное – у 21 (100,0 %), тахікардія – у 20 (92,5 %), підвищення температури більше 38°C – у 14 (66,7 %), лейкоцитоз та лейкопенія – по 6 (28,6 %) пацієнтів. У 47,6 % обстежених було зареєстровано наявність трьох, а у 52,4 % – чотирьох ознак ССЗВ.

У 13 (61,9 %) пацієнтів ССЗВ поєднувався з ознаками органної дисфункції: печінкова дисфункція – у 10 (47,6 %), ГРДС та ниркова дисфункція – по 8 (38,1 %). Загалом ПОН була діагностована у 9 (42,8 %) пацієнтів, більшість з яких (88,9 %) мали поліморфнозміннені генотипи TLR-3. При цьому, частіше ПОН розвивалася в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 (50,0 %, при нормальному розподілі алелей TLR – 7,1 %,  $p < 0,03$ , OR=13,0; 95 % CI:1,11-152,36). У 7 (77,8 %) хворих із ПОН розвинувся ГРДС, який у 5 (55,6 %) став причиною летального наслідку. При аналізі частоти виникнення ГРДС у пацієнтів в залежності від генотипу досліджуваних TLR встановлено, що частіше ГРДС розвивався в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 (50,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 7,1 %,  $p < 0,03$ , OR=13,0; 95 % CI:1,11-152,36) (рис. 5.2.5).



**Рис. 5.2.5 Частота розвитку ГРДС у пацієнтів із грип-асоційованою пневмонією з поліморфнозмінними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)



У пацієнтів із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ГРДС діагностували у 4 рази частіше (28,6 %), але вірогідної різниці з носіями нормального розподілу алелей TLR не виявлено (7,1 %,  $p=0,247$ ). У одного пацієнта (4,8 %) з генотипом Phe/Phe TLR-3 перебіг грип-асоційованої пневмонії ускладнився розвитком інфекційно-токсичного шоку.

Всі пацієнти з тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній мали потребу в респіраторній підтримці, шестеро з них знаходились на штучній вентиляції легень (ШВЛ). Середня тривалість перебування на ШВЛ склала ( $6,50\pm 2,29$ ) доби. Необхідність проведення ШВЛ виникала в середньому на ( $7,16\pm 1,03$ ) добу захворювання.

Летальність серед пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії, госпіталізованих у відділення інтенсивної терапії, склала 23,8 % (5 пацієнтів). Безпосередньою причиною летального наслідку в усіх був розвиток ГРДС. Серед померлих вірусну пневмонію діагностували у 4, бактеріальну – у 1 пацієнта. Летальність при первинній вірусній пневмонії склала 21,0 %, вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %, бактеріальній – 20,0 %.

При аналізі догоспітального етапу пацієнтів із летальним вислідом від грип-асоційованої пневмонії встановлено, що всі вони лікувалися самостійно, симптоматичними засобами і зверталися за медичною допомогою при різкому погіршенні стану на ( $6,40\pm 0,69$ ) добу, що виявилось пізніше, порівняно з пацієнтами, які одужали ( $4,75\pm 0,67$ ,  $p<0,05$ ). При порівнянні тяжкості системних розладів та локальних змін у легенях встановлено, що пацієнти, які згодом померли вже при госпіталізації у відділення інтенсивної терапії набирали більшу кількість балів по шкалі SOFA – 3,5 (3; 5) проти 3 (2; 3), ( $p<0,01$ ), у порівнянні з хворими, які мали сприятливий перебіг хвороби.

Частота ПОН та ГРДС була вищою серед пацієнтів із летальним вислідом (по 100,0 %), у порівнянні з тими, які вижили (25,0 %,  $p<0,006$  і 18,7 %,  $p<0,002$  відповідно), що свідчить про провідну роль

синдрому поліорганної недостатності в несприятливому перебігу грип-асоційованої пневмонії.

Аналіз показників периферичної крові при госпіталізації показав, що ознаки анемії легкого ступеня та вміст гемоглобіну нижче 120 г/л реєструвалися загалом у 13 (26,5 %) пацієнтів: при середньотяжкому перебігу у 21,4 %, тяжкому – у 33,3 %. Лейкоцитоз та лейкопенію визначали з однаковою частотою у 8 (16,3 %) пацієнтів, але при тяжкому перебігу в 4,0 рази частіше (28,6 %,  $p < 0,02$ ), ніж при середньотяжкому (7,1 %). При аналізі лейкоцитарної формули встановлено, що у 6 (12,2 %) пацієнтів мав місце лімфоцитоз, у 20 (40,8 %) лімфопенія. При цьому лімфоцитоз у 3,7 разу частіше визначали при середньотяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній (17,8 %, при тяжкому – 4,8 %), а лімфопенію, навпаки, у 2,0 рази частіше при тяжкому – 57,1 % (при середньотяжкому – 28,6 %), однак, без вірогідної різниці між ними. Збільшення вмісту паличкоядерних нейтрофілів визначали у більшості пацієнтів (87,7 %), як із середньотяжким (78,6 %), так і тяжким перебігом (100,0 %). У 61,2 % випадках гемограма характеризувалася значним збільшенням ШОЕ, при цьому на тлі нормальної кількості лейкоцитів у 13 (26,5 %), лейкопенії – у 3 (6,1 %). Збільшення ШОЕ при середньотяжкому та тяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній визначали у 15 (53,6 % і 71,4 % відповідно) пацієнтів.

У подальшому представилося за доцільне провести порівняльну оцінку гематологічних показників у динаміці пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3 TLR-4. Аналіз показників гемограми, залежно від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній, виявив достовірні відмінності окремих середніх значень. Так, при середньотяжкому перебігу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 відмічалися вірогідно нижчі показники ШОЕ на 1-3, 4-6 та 7-10 добу госпіталізації, в порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей (табл. 5.2.7).

Таблиця 5.2.7

**Динаміка показників периферичної крові у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу грип-асоційованих пневмоній (M±m)**

Показник	Середньотяжкий перебіг			Тяжкий перебіг			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=11)	TLR-3 Leu/Phe, Phe/Phe (n=11)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=4)	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1	2	3	4	5	6	7	8
1-3 доба госпіталізації							
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,03±0,13	4,19±0,12	4,47±0,17	3,67±0,26	4,00±0,26	4,24±0,15*	4,60±0,17*
Гемоглобін, г/л	126,9±4,64	130,54±4,34	144,0±5,36	109,0±10,70	125,40±9,76	132,0±5,75*	148,66±10,98*
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	6,88±0,93	6,40±0,65	6,67±1,13	9,70±4,05	9,23±2,60	9,64±2,96	6,86±1,07
Еозинофіли, %	1,82±1,04	0,73±0,19	0,50±0,28	0,33±0,33	0,62±0,26	1,14±0,40	-
Нейтрофіли:							
паличкоядерні, %	15,36±3,26	14,09±3,26	13,25±0,49	24,0±4,94	21,5±3,78	23,42±5,59	18,33±2,85
сегментоядерні, %	51,09±4,42	53,89±2,26	52,50±9,49	49,67±2,96	52,50±3,57	55,0±6,12	60,0±9,46

Продовження табл. 5.2.7

1	2	3	4	5	6	7	8
Лімфоцити, %	25,27±4,26	26,90±3,93	24,50±5,57±	24,33±10,17	18,90±3,39	14,85±3,39	15,66±5,24
Моноцити, %	6,36±0,89	5,55±0,71	8,25±1,19	6,00±1,73	7,25±1,46	5,71±1,51	4,67±2,03
Тромбоцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	246,36±16,38	261,81±21,32	217,50±19,31	223,33±38,43	188,12±6,61	192,86±7,88	183,33±6,65
ШОЕ, мм/год	24,36±5,65	13,54±2,36*	14,44±4,81	29,33±10,81	21,37±5,89	19,57±4,74	22,0±5,00
4-6 доба госпіталізації							
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,10±0,11	4,10±0,23	3,90±0,29	3,70±0,15	3,86±0,22	4,23±0,15*	4,17±0,08*
Гемоглобін, г/л	130,40±4,08	128,40±4,40	140,0±6,01	112,67±3,71	121,12±7,55	130,43±6,13*	141,67±2,73*
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	6,24±0,46	5,96±0,64	5,70±0,09	8,73±1,62	6,72±1,96	8,21±1,96	5,07±0,92
Еозинофіли, %	2,60±0,81	1,80±0,58	-	-	1,00±0,33	0,43±0,20	0,33±0,33
Нейтрофіли:							
паличкоядерні, %	9,80±2,03	7,80±2,49	7,00±1,98	9,33±3,84	16,37±2,62°	19,28±5,75°	8,67±3,53
сегментоядерні, %	57,40±3,32	53,00±4,46	63,50±0,49	71,00±15,18	53,62±5,51*	54,43±6,01	63,00±6,66
Лімфоцити, %	25,00±2,59	33,80±7,28	21,50±4,51	14,00±1,16	24,50±4,79*	20,57±6,52	23,67±8,42
Моноцити, %	5,00±0,63	3,60±0,94	7,00±1,00	5,66±1,45	4,12±0,97	5,00±1,27	3,33±0,88
Тромбоцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	250,90±16,38	262,72±16,99	215,0±18,48	233,33±24,0	191,25±6,12	194,29±9,24	190,0±5,78

Продовження табл. 5.2.7

1	2	3	4	5	6	7	8
ШОЕ, мм/год	36,60±11,25	11,75±4,06*	45,50±0,49	30,33±11,85	24,25±5,82	24,14±6,89	24,67±5,18
7-10 доба госпіталізації							
Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,31±0,07	4,27±0,18	4,65±0,05	3,47±0,03	3,84±0,20	4,23±0,14*	4,27±0,06*
Гемоглобін, г/л	134,45±2,58	132,82±4,56	142,00±2,00	104,67±2,90	120,20±8,64	128,17±3,60*	136,00±3,51*
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	7,44±0,49	5,79±0,54*	5,65±1,15	10,10±1,30	7,00±1,11°	8,61±1,50	7,17±1,22°
Еозинофіли, %	2,63±1,36	2,73±0,55	0,50±0,49	1,25±0,25	4,80±2,38	2,14±0,86	1,25±0,25
Нейтрофіли:							
паличкоядерні, %	7,36±0,99	4,82±0,86*	3,50±1,50°	5,33±2,02	4,20±1,16	7,43±2,19	7,33±0,66
сегментоядерні, %	53,64±2,63	46,45±2,50*	56,00±4,00	61,67±9,94	45,20±6,74	59,57±4,81	65,67±8,18
Лімфоцити, %	29,90±2,18	40,45±2,82*	34,50±1,50°	23,00±8,15	35,00±4,89	25,71±5,87	21,33±6,07
Моноцити, %	6,36±1,08	5,27±0,74	4,50±1,50	9,33±3,53	10,40±1,12	4,57±0,65	5,00±3,51
Тромбоцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	244,54±15,48	253,63±17,47	225,0±14,14	190,0±8,17	195,71±4,81	191,43±7,37	193,33±3,33
ШОЕ, мм/год	21,72±5,13	9,36±1,32*	16,00±12,30	22,00±7,24	13,20±4,75	14,85±5,62	10,33±0,33°

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками хворих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

На 7-10 добу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 виявилися нижчими: загальна кількість лейкоцитів, відсоток паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів.

У пацієнтів із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4, з тенденцією до вірогідності, був нижчим відсоток паличкоядерних нейтрофілів ( $3,50 \pm 1,50$  і  $56,0 \pm 4,0$  відповідно, при нормальному розподілі алелей TLR –  $7,36 \pm 0,99$  і  $53,64 \pm 2,63$ ,  $p < 0,1$ ). У ці ж терміни лейкоцитарна формула характеризувалася вірогідно вищою кількістю лімфоцитів в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 ( $40,45 \pm 2,82$ ) та з тенденцією до вірогідності з комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 ( $34,50 \pm 1,50$ ), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR ( $29,90 \pm 2,18$ ,  $p < 0,005$  і  $p < 0,1$  відповідно) (табл. 5.2.7).

Індивідуальний аналіз показників периферичної крові на 1-3 добу госпіталізації показав, що прискорення ШОЕ в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 визначалося у 27,3 %, що виявилось в 2,7 разу рідше, ніж при нормальному розподілі алелей TLR (72,7 %,  $p < 0,05$ ). На 7-10 добу в осіб із поліморфізмом Leu412Phe гену TLR-3 частіше виявлялася лейкопенія – у 18,2 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 0,0 %,  $p < 0,1$ ), лімфоцитоз – у 54,5 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 9,1 %,  $p < 0,05$ ), проте нижчим був відсоток обстежених із паличкоядерним зсувом лейкоцитарної формули вліво – 27,3 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 54,5 %,  $p < 0,1$ ).

При тяжкому перебігу на 1-3 добу після госпіталізації визначалися вірогідно вищі показники гемоглобіну та кількості еритроцитів в осіб із гомозиготним генотипом Phe/Phe TLR-3 ( $132,0 \pm 5,75$  і  $4,24 \pm 0,15$  відповідно) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 ( $148,66 \pm 10,98$  і  $4,60 \pm 0,17$ ), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR ( $109,0 \pm 10,70$  і  $3,67 \pm 0,26$  відповідно,  $p < 0,05$ ). Загалом ознаки анемії легкого ступеня та вміст гемоглобіну нижче 120 г/л реєструвалися у 37,5 % пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3, 14,3 % з

Phe/Phe TLR-3, що виявилось в 1,8 і 4,7 разу рідше, порівняно з носіями нормальних генотипів (66,7 %,  $p < 0,1$  і  $p < 0,05$  відповідно). Аналогічна тенденція зберігалася протягом всього періоду спостереження, а також при виписці. На 4-6 добу відмічався вищий відсоток паличкоядерних нейтрофілів в осіб із генотипом Leu/Phe (16,37±2,62) та Phe/Phe TLR-3 (19,28±5,75, при нормальному розподілі алелей TLR – 9,33±3,84,  $p < 0,1$ ) та кількість лімфоцитів з Leu/Phe TLR-3 (24,50±4,79, при нормальному розподілі алелей TLR – 14,00±1,16,  $p < 0,02$ ). При цьому частота виявлення зсуву лейкоцитарної формули вліво та лімфоцитозу в осіб із поліморфнозміненими та нормальними генотипами TLR-2, TLR-3 TLR-4 достовірно не різнилися. Вірогідно нижчим був відсоток сегментоядерних нейтрофілів у пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3 (53,62±5,51, при нормальному розподілі алелей TLR – 71,00±15,18,  $p < 0,01$ ). На 7-10 добу виявилися нижчими загальна кількість лейкоцитів в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 (7,00±1,11) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 (7,17±1,22, при нормальному розподілі алелей TLR – 10,10±1,30,  $p < 0,1$ ) та ШОЕ у пацієнтів із комбінаціями поліморфізмів генів TLR-2, TLR-3 TLR-4 (10,33±0,33, при нормальному розподілі алелей TLR – 22,00±7,24,  $p < 0,1$ ).

Порівняльний аналіз біохімічних показників у динаміці проводили у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 з тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній. Отримані результати показали, що у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 частіше виявлялися зміни біохімічних показників, які свідчили про порушення функції печінки та нирок і вказували на розвиток ПОН у цієї категорії осіб. Так, на момент госпіталізації у відділення інтенсивної терапії рівень загального білірубину був достовірно вищим в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 (19,55±1,58 ммоль/л), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (13,00±1,53 ммоль/л,  $p < 0,01$ ). На 4-6 добу виявилися вищими активність АлАТ у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 (Leu/Phe –

117,00±34,57 Од, Phe/Phe – 101,33±32,74 Од, при нормальному розподілі алелей TLR – 46,56±7,18 Од,  $p<0,05$  і  $p<0,1$  відповідно), показник креатиніну з генотипом Phe/Phe TLR-3 (118,00±8,27 мкмоль/л, при нормальному розподілі алелей TLR – 98,33±4,98 мкмоль/л,  $p<0,05$ ) та сечовини при комбінаціях поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (6,87±0,49 ммоль/л, при нормальному розподілі алелей TLR – 5,37±0,63 ммоль/л,  $p<0,1$ ). На 7-10 добу в осіб із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 відмічалось зростання рівня креатиніну та сечовини в 2,9 і 2,5 разу (255,67±136,30 мкмоль/л і 12,77±5,50 ммоль/л відповідно), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (86,67±8,58 мкмоль/л і 5,23±0,60 ммоль/л відповідно,  $p<0,05$ ), що вказувало на прогресування органно-системної дисфункції. У пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3 вищим визначався показник креатиніну (114,27±3,44 мкмоль/л, при нормальному розподілі алелей TLR – 86,67±8,58 мкмоль/л,  $p<0,01$ ) та з тенденцією до вірогідності активність АлАТ (98,50±20,17 Од, при нормальному розподілі алелей TLR – 52,00±18,15 Од,  $p<0,1$ ). Зниження кількості загального білку визначалося як у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, при цьому на 1-3 та 4-6 добу нижчі показники реєструвалися в осіб із нормальним розподілом алелей (61,67±1,45 г/л і 56,00±1,16 г/л відповідно), у порівнянні з генотипом Leu/Phe (71,67±2,13 г/л і 67,60±1,10 г/л відповідно,  $p<0,05$ ) та Phe/Phe TLR-3 (67,83±2,32 г/л і 61,28±2,79 г/л,  $p<0,05$  і  $p<0,1$ , відповідно).

Підвищення вмісту фібриногену, як маркера запальної реакції, відзначали в усіх обстежених. Проте на 7-10 добу в осіб із нормальним розподілом алелей TLR відмічалось зниження показника фібриногену до норми (3,66±0,81 г/л), чого не спостерігалось у пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами, серед яких найвищим він був у носіїв комбінацій мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (5,33±0,34 г/л,  $p<0,1$ ). (табл. 5.2.8).



Таблиця 5.2.8

**Динаміка показників біохімічного аналізу крові пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 при тяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній (M±m)**

Показник	Генотип			
	Нормальний розподіл алелей TLR (n=3)	TLR-3 Leu/Phe (n=8)	TLR-3 Phe/Phe (n=7)	Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (n=3)
1	2	3	4	5
1-3 доба госпіталізації				
Загальний білок, г/л	61,67±1,45	71,67±2,13*	67,83±2,32*	67,67±1,85
Білірубін, мкмоль/л	13,00±1,53	13,99±1,02	19,55±1,58*	13,27±1,89
АлАТ, Од	109,00±65,50	72,50±9,90	72,00±18,18	48,93±10,29
АсАТ, Од	98,33±63,35	51,62±7,95	172,00±124,24	68,83±14,76
Сечовина, ммоль/л	6,37±1,20	6,45±1,00	5,30±0,70	8,60±0,91
Креатинін, мкмоль/л	105,00±2,65	117,37±14,51	115,43±9,85	106,73±16,17
ПТГ, %	76,00±2,00	93,50±3,15*	82,57±2,81*	82,33±1,33*
Фібриноген, г/л	3,99±0,99	4,17±0,49	4,78±0,34	5,29±1,32

Продовження табл. 5.2.8

1	2	3	4	5
4-6 доба госпіталізації				
Загальний білок, г/л	56,00±1,16	67,60±1,10*	61,28±2,79°	63,33±4,06
Білірубін, мкмоль/л	16,17±1,10	14,96±1,25	18,37±2,89	13,13±2,04
АлАТ, Од	46,56±7,18	117,00±34,57*	101,33±32,74°	48,00±4,09
АсАТ, Од	53,53±21,10	58,50±6,63	112,43±42,73	41,00±2,04
Сечовина, ммоль/л	5,37±0,63	5,46±0,58	6,43±0,59	6,87±0,49°
Креатинін, мкмоль/л	98,33±4,98	113,00±8,04	118,00±8,27*	88,17±11,05
ПТТ, %	83,33±2,66	87,25±2,23	90,14±4,75	82,33±1,33
Фібриноген, г/л	4,14±0,94	5,11±0,40	5,28±0,72	5,27±0,26
7-10 доба госпіталізації				
Загальний білок, г/л	50,50±2,04	69,83±1,69	61,00±6,35	61,00±7,01
Білірубін, мкмоль/л	14,43±1,72	15,58±1,12	14,85±1,36	15,27±0,88
АлАТ, Од	52,00±18,15	98,50±20,17°	96,15±43,06	44,16±4,79
АсАТ, Од	73,67±27,00	53,17±5,98	58,30±16,89	37,40±6,30
Сечовина, ммоль/л	5,23±0,60	5,58±0,52	5,39±0,35	12,77±5,50*

*Продовження табл. 5.2.8*

1	2	3	4	5
Креатинін, мкмоль/л	86,67±8,58	114,27±3,44*	93,77±0,55	255,67±136,30*
ПТГ, %	85,50±3,68	87,33±2,85	78,00±3,89	72,67±2,90*
Фібриноген, г/л	3,66±0,81	4,64±0,54	4,97±0,73	5,33±0,34°

Примітка. \* –  $p < 0,05$ ; ° –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками пацієнтів із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

На 1-3 добу госпіталізації у відділення інтенсивної терапії протромбінний індекс в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 був вірогідно вищим, порівняно з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR: з генотипом Leu/Phe TLR-3 –  $93,50 \pm 3,15$  %, Phe/Phe –  $82,57 \pm 2,81$  %, комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 –  $82,33 \pm 1,33$  % (при нормальному розподілі алелей TLR –  $76,00 \pm 2,00$  %,  $p < 0,05$ ). На 7-10 добу гіпокоагуляція спостерігалася лише в осіб із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (у 4 із 7 пацієнтів) ( $72,67 \pm 2,90$  %, при нормальному розподілі алелей TLR –  $85,50 \pm 3,68$  %,  $p < 0,01$ ) (табл. 5.2.8).

При порівнянні біохімічних показників пацієнтів із летальним вислідом від грип-асоційованої пневмонії та тих, які одужали, встановлено, що у пацієнтів, які згодом померли вірогідно вищими були показники сечовини ( $7,84 \pm 0,73$  ммоль/л, у пацієнтів, які одужали –  $5,90 \pm 0,61$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ), фібриногену ( $5,80 \pm 0,59$  г/л, у пацієнтів, які одужали –  $4,32 \pm 0,34$  г/л,  $p < 0,02$ ), з тенденцією до вірогідності креатиніну ( $130,0 \pm 13,95$  мкмоль/л, у пацієнтів, які одужали –  $109,2 \pm 7,35$  мкмоль/л,  $p < 0,1$ ).

**Резюме.** Таким чином, проведені дослідження показали, що в осіб без загальноновизнаних факторів ризику ускладненого перебігу грипу первинна вірусна пневмонія розвивалася виключно у носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 (Leu/Phe – 44,4 %, OR=18,91, Phe/Phe – 100,0 %, OR=49,3) та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 (42,8 %, OR=22,55) і характеризувалася: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного (63,1 %) та багаточасткового (47,4 %) ураження легень, тяжким перебігом (63,1 %) з тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (36,8 %) та поліорганної недостатності (42,1 %), та високою летальністю (21,0 %).

Вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом (55,6 %

і 50,0 % відповідно) з двобічним ураженням легень (55,6 % і 75,0 % відповідно) (при нормальному розподілі алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – по 10,0 %).

Основні положення розділу знайшли відображення в опублікованих працях автора:

1 Прийменко Н. О. Особливості преморбідного фону та перебігу пневмоній при грипі в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Н. О. Прийменко // Інфекційні хвороби. – 2013. – № 3(73). – С. 18-23.

2 Дубинська Г. М. Особливості перебігу пневмоній при грипі у осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко // Одеський медичний журнал. – 2014. – № 1(141). – С. 38-42.

3 Дубинська Г. М. Клініко-лабораторні особливості перебігу пневмоній при грипі в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, О. А. Шликова // Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: : мат. наук.-практ. конф., 19-20 червня 2013 р. – Суми, 2013. – С. 37-39.

**РОЗДІЛ 6**  
**ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОПРОФІЛАКТИКИ**  
**ГРИПУ В ОСІБ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ RG753GLN TLR-2,**  
**LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4**

Для вивчення ефективності вакцинації проти грипу в людей із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 було провакциновано 66 осіб віком від 18 до 63 років (середній –  $31,2 \pm 1,48$ ), жінок – 48 (72,7 %), чоловіків – 18 (27,3 %). За генотипом вакциновані були розподілені наступним чином: із Leu/Phe TLR-3 – 23, Phe/Phe TLR-3 – 6, Asp/Gly TLR-4 та комбінацією мутантних генотипів досліджуваних TLR – по 6, Arg/Gln TLR-2 – 5 осіб. Отримані результати порівнювали з даними 20 здорових із нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 рівноцінними за статтю і віком. Усі обстежені вакцинувалися проти грипу вперше.

Імунологічну ефективність вакцинації оцінювали по сероконверсії (число приростів специфічних титрів антитіл в 4 рази і більше), серопротекції (відсоток осіб із титрами 1:40 і вище після вакцинації) та динаміці рівня середніх геометричних титрів антитіл. При аналізі враховували початковий рівень протигрипозних антитіл.

Оскільки, популяція людей неоднорідна по наявності антитіл до різних штамів і підтипів вірусів грипу внаслідок грипозних епідемій, представлялось за доцільне оцінити стан протигрипозного імунітету до вакцинації осіб, які підлягали імунізації.

Проведені дослідження показали, що у більшості осіб, як із мутантними, так і нормальними генотипами досліджуваних TLR, виявлялися протективні титри специфічних IgG до вірусів грипу. Показники протигрипозного імунітету до вакцинації в обстежених представлені в таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

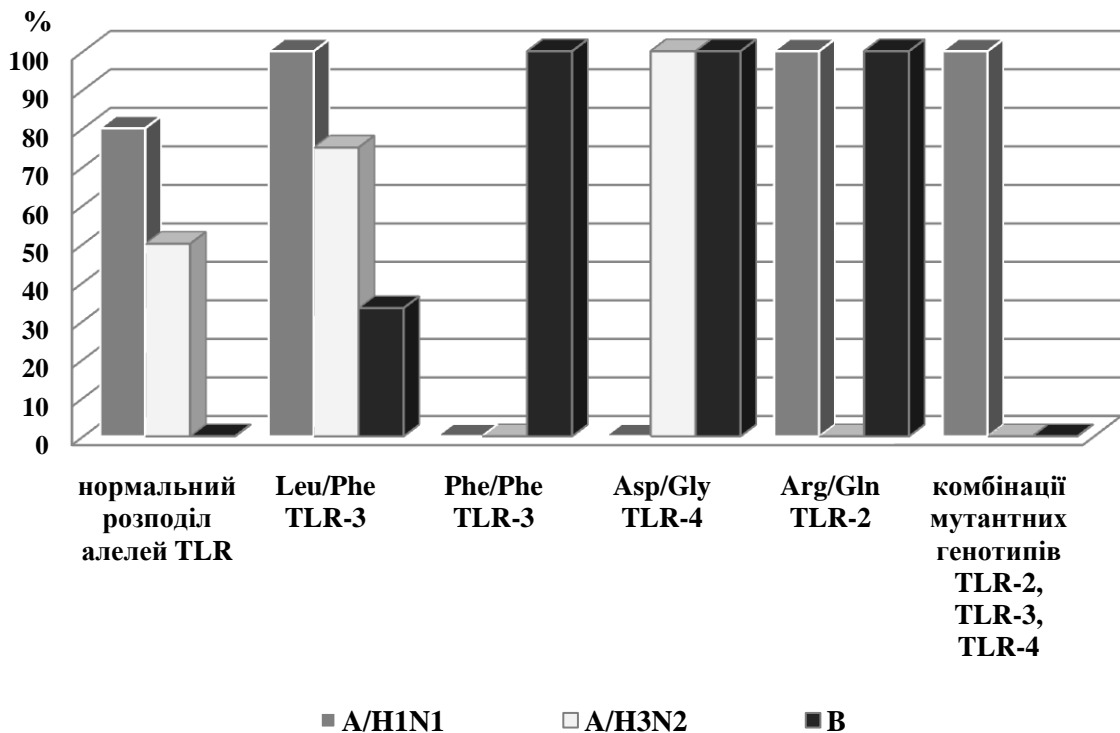
**Стан протигрипозного імунітету до вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Генотип TLR	Серотип вірусу грипу	Титр антитіл					
		≤ 1:10		1:20		≥ 1:40	
		абс.	% ±m	абс.	% ±m	абс.	% ±m
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	A/H1N1	2	10,0±6,7	3	15,0±7,9	15	75,0±9,7
	A/H3N2	2	10,0±6,7	2	10,0±6,7	16	80,0±8,9
	B	1	5,0±4,87	1	5,0±4,87	18	90,0±6,7
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	A/H1N1	4	17,4±7,9	3	13,0±7,0	16	69,6±9,6
	A/H3N2	0	0,0	4	17,4±7,9	19	82,6±7,9
	B	1	4,3±4,2	5	21,7±8,6	17	73,9±9,1
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	A/H1N1	0	0,0	0	0,0	6	100,0±4,1
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	6	100,0±4,1
	B	0	0,0	1	16,7±15,2	5	83,3±15,2
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	A/H1N1	0	0,0	1	16,7±15,2	5	83,3±15,2
	A/H3N2	0	0,0	1	16,7±15,2	5	83,3±15,2
	B	0	0,0	1	16,7±15,2	5	83,3±15,2
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	A/H1N1	0	0,0	2	40,0±21,9	3	60,0±21,9
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	5	100,0±4,5
	B	0	0,0	1	20,0±17,9	4	80,0±17,9
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	A/H1N1	0	0,0	1	16,7±15,2	5	83,3±15,2
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	6	100,0±4,1
	B	0	0,0	0	0,0	6	100,0±4,1

Як видно з наведених у табл. 6.1 даних, стан імунітету до вакцинації характеризувався високим рівнем серопротекції в усіх групах обстежених із найвищим показником захищеності в осіб із мутантним гомозиготним генотипом Phe/Phe TLR-3, гетерозиготним Asp/Gly TLR-4 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 83,3 %-100,0 % до всіх вакцинних штамів. До вакцинації серонегативними виявилися особи з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR (A/H1N1 та A/H3N2 – по 10,0 %, B – 5,0 %) та гетерозиготним генотипом Leu/Phe TLR-3 (A/H1N1 – 17,4 %, B – 4,3 %).

Проведене дослідження імунологічної ефективності вакцинації показало, що через 28 днів після імунізації відмічалось наростання відсотка осіб із захисним титром антитіл в усіх групах вакцинованих, незалежно від початкового рівня протигрипозних антитіл. Так, через 4 тижні після вакцинації відсоток осіб із захисними титрами антитіл серед тих, що мали довакцинальний рівень  $\leq 1:20$  склав: із нормальним розподілом алелей TLR до серотипу A/H1N1 – 80,0 %, A/H3N2 – 50,0 %, із генотипом Leu/Phe TLR-3 до A/H1N1 – 100,0 %, A/H3N2 – 75,0 %, B – 33,3 %. Слід відмітити, що серед обстежених із мутантними генотипами Phe/Phe TLR-3, Asp/Gly TLR-4, Arg/Gln TLR-2 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 особи із початковим титром  $\leq 1:20$  визначалися лише до окремих штамів вірусу грипу, при цьому вони стовідсотково мали протективний рівень специфічних антитіл після вакцинації. За рівнем серопротекції особи із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 з низьким початковим титром антитіл ( $\leq 1:20$ ) достовірно не відрізнялися (рис. 6.1).





**Рис. 6.1 Рівень серопротекції після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 з початковим титром специфічних антитіл  $\leq 1:20$**

При дослідженні рівня серопротекції в групах обстежених загалом (незалежно від початкового рівня протигрипозних антитіл) до та через 28 днів після вакцинації встановлено зростання відсотку осіб із протективним титром до всіх штамів грипу як серед вакцинованих із мутантними генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (табл. 6.2). При цьому вищим рівень серопротекції виявився до серотипу A/H1N1 в осіб із нормальним розподілом алелей TLR ( $95,0 \pm 4,9$ , до вакцинації –  $75,0 \pm 9,7$ ,  $p < 0,05$ ) та генотипом Leu/Phe TLR-3 ( $100,0 \pm 2,1$ , до вакцинації –  $69,6 \pm 9,6$ ,  $p < 0,005$ ), з тенденцією до вірогідності до серотипу A/H3N2 в осіб з Leu/Phe TLR-3 ( $95,6 \pm 4,3$ , до вакцинації –  $82,6 \pm 7,9$ ,  $p < 0,1$ ) і A/H1N1 – з генотипом Arg/Gln TLR-2 ( $100,0 \pm 4,5$ , до вакцинації –  $60,0 \pm 21,9$ ,  $p < 0,1$ ).

Таблиця 6.2

**Рівень серопротекції в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 до та через 28 днів після вакцинації, абс. число (%)**

Генотип TLR	Серотип вірусу грипу					
	A/H1N1		A/H3N2		B	
	абс.	% ±m	абс.	% ±m	абс.	% ±m
1	2	3	4	5	6	7
До вакцинації						
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	15	75,0±9,7	16	80,0±8,9	18	90,0±6,7
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	16	69,6±9,6	19	82,6±7,9	17	73,9±9,1
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	6	100,0±0,0	6	100±0,0	5	83,3±15,2
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	5	83,3±15,2	5	83,3±15,2	5	83,3±15,2
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	3	60,0±21,9	5	100,0±0,0	5	100,0±0,0
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	5	83,3±15,2	6	100,0±0,0	6	100,0±0,0
Через 28 днів після вакцинації						
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	19	95,0±4,9 *	18	90,0±6,7	18	90,0±6,7

Продовження табл. 6.2

1	2	3	4	5	6	7
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	23	100,0±0,0 *	22	95,6±4,3 °	19	82,6±7,9
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	6	100,0±0,0	6	100,0±0,0	6	100,0±4,1
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	5	83,3±15,2	6	100,0±0,0	6	100,0±0,0
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	5	100,0±0,0 °	5	100,0±0,0	5	100,0±0,0
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	6	100,0±0,0	6	100,0±0,0	6	100,0±0,0

Примітка: \* –  $p < 0,05$ ; ° –  $p < 0,1$  у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Стюдента)

При аналізі рівня сероконверсії встановлено, що вакцинальна відповідь в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 не залежала від початкового рівня специфічних антитіл та визначалася на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR, а до штаму А/Н1N1 виявилася навіть вірогідно вищою. Так, за рівнем сероконверсії вакциновані із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR із початковим титром специфічних антитіл  $\leq 1:20$  між собою достовірно не відрізнялися. Виняток склали особи із генотипом Leu/Phe TLR-3, у яких показник 4-х кратного приросту антитіл до серотипу А/Н1N1 склав 100,0 % проти 40,0 % ( $p < 0,04$ ) у вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR. Встановлено відсутність імунної відповіді до штаму грипу В в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3, проте аналогічний результат отриманий і в обстежених із нормальним розподілом алелей TLR.

У вакцинованих із мутантними генотипами Phe/Phe TLR-3, Asp/Gly TLR-4, Arg/Gln TLR-2 та їхньою комбінацією, які мали початковий титр  $\leq 1:20$  до окремих штамів грипу стовідсотково отримана сероконверсія (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Рівень сероконверсії в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 з титром антитіл до вакцинації  $\leq 1:20$  та  $\geq 1:40$ , абс. число (%)**

Генотип TLR	Серотип вірусу грипу	Кількість осіб із титром $\leq 1:20$ до вакцинації		Кількість осіб із серокон версією		Кількість осіб із титром $\geq 1:40$ до вакцинації		Кількість осіб із серокон версією	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	A/H1N1	5	25,0	2	40,0	15	75,0	3	20,0
	A/H3N2	4	20,0	2	50,0	16	80,0	3	18,7
	B	2	10,0	0	0,0	18	90,0	7	38,9
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	A/H1N1	7	30,4	7	100,0*	16	69,6	8	50,0
	A/H3N2	4	17,4	1	25,0	19	82,6	7	36,8
	B	6	26,1	0	0,0	17	73,9	3	17,6
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	A/H1N1	0	0,0	0	0,0	6	100,0	4	66,7
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	6	100,0	2	33,3
	B	1	16,7	1	100,0	5	83,3	0	0,0
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	A/H1N1	1	16,7	1	100,0	5	83,3	1	20,0
	A/H3N2	1	16,7	1	100,0	5	83,3	1	20,0
	B	1	16,7	1	100,0	5	83,3	0	0,0

Продовження табл. 6.3

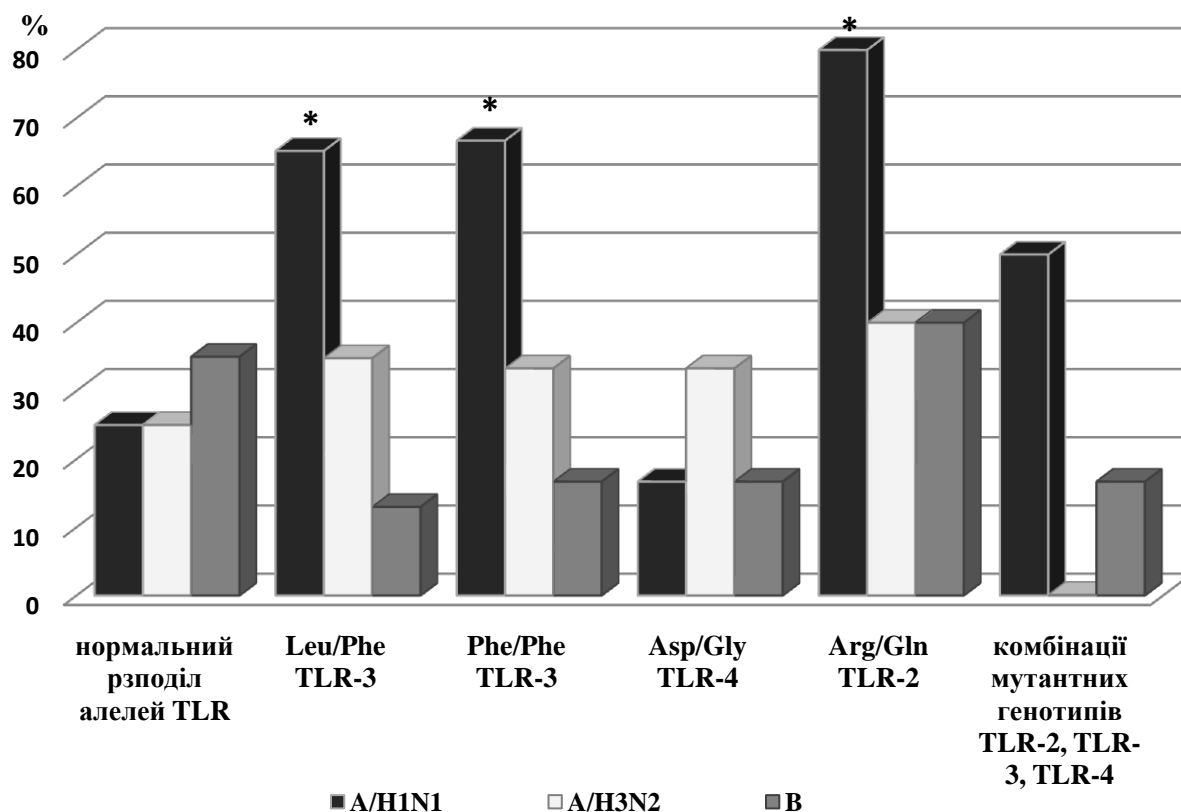
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	A/H1N1	2	40,0	2	100,0	3	60,0	2	66,7
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	5	100,0	2	40,0
	B	1	20,0	1	100,0	4	80,0	2	50,0
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	A/H1N1	1	16,7	1	100,0	5	83,3	2	40,0
	A/H3N2	0	0,0	0	0,0	6	100,0	0	0,0
	B	0	0,0	0	0,0	6	100,0	1	16,7

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

При дослідженні рівнів сероконверсії в осіб із початковим титром протигрипозних антитіл  $\geq 1:40$  достовірної різниці у вакцинальній відповіді між обстеженими із мутантними генотипами TLR та нормальним розподілом алелей не виявлено (табл. 6.3). Слід відмітити відсутність 4-х кратного зростання титрів специфічних антитіл до серотипу B в осіб із генотипами Phe/Phe TLR-3, Asp/Gly TLR-4, та до A/H3N2 у вакцинованих із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4, при цьому всі вони мали високі початкові титри протигрипозних антитіл. Медіана рівня специфічних антитіл до вакцинації склала в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 – 240 [80; 320], Asp/Gly TLR-4 – 80 [40; 160] та комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 160 [80; 160], а зростання рівня специфічних антитіл відмічалось в 2 рази в порівнянні з початковим.

Аналіз рівня сероконверсії в загальній групі вакцинованих виявив відмінності у вакцинальній відповіді до серотипу A/H1N1 в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2 та TLR-3 у порівнянні з

вакцинованими із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рис. 6.2).



**Рис. 6.2 Рівень сероконверсії в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Ст'юдента)

Так, число 4-х кратних сероконверсій було достовірно вищим в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 ( $65,2 \pm 9,7$  %,  $p < 0,05$ ), Arg/Gln TLR-2 ( $80,0 \pm 17,9$  %,  $p < 0,05$ ) та з тенденцією до вірогідності з Phe/Phe TLR-3 ( $66,7 \pm 19,2$  %,  $p < 0,1$ ) у порівнянні з вакцинованими із нормальним розподілом алелей TLR ( $25,0 \pm 9,7$  %). Рівень сероконверсії до серотипів A/H3N2 та B в осіб із поліморфнозміненими генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 достовірно не різнився.

Дослідження динаміки середньгеометричних титрів антитіл показало, що на 28 день вакцинального процесу відбулося зростання титрів в усіх групах вакцинованих. При порівняльному аналізі середньгеометричних титрів після вакцинації в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR встановлено, що вакциновані із поліморфнозміненими генотипами TLR мали достовірно вищі показники до окремих вакцинних штамів (табл. 6.4).

Таблиця 6. 4

**Величина середньгеометричних титрів антитіл до та через 28 днів після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Генотип TLR	Серотип вірусу грипу	Середньгеометричні титри антитіл	
		до вакцинації	після вакцинації
1	2	3	4
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	A/H1N1	29,6	54,0
	A/H3N2	54,0	100,8
	B	62,1	119,9
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	A/H1N1	37,1	129,6*
	A/H3N2	49,4	104,9
	B	62,9	87,6
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	A/H1N1	80,0	226,3*
	A/H3N2	71,3	160,0
	B	126,9	226,3
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	A/H1N1	44,9	71,3
	A/H3N2	63,5	126,9
	B	89,8	142,5
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	A/H1N1	40,0	160,0*
	A/H3N2	139,3	320,0*
	B	69,6	211,1

## Продовження табл. 6.4

1	2	3	4
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	A/H1N1	80,0	179,6*
	A/H3N2	113,1	142,5
	B	126,9	179,5

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Ст'юдента)

Так, середньгеометричні титри до штаму A/H1N1 виявилися вищими в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 у 2,4 (126,9,  $p < 0,005$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 4,2 (226,3,  $p < 0,001$ ), Arg/Gln TLR-2 – у 3,0 (160,0,  $p < 0,02$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,3 разу (179,6,  $p < 0,01$ ) у порівнянні з вакцинованими із нормальним розподілом алелей TLR (54,0). До штаму A/H3N2 відповідний показник був достовірно вищим у вакцинованих із генотипом Arg/Gln TLR-2 (320,0 при нормальному розподілі алелей TLR – 100,8,  $p < 0,0005$ ).

Таким чином, при аналізі антитілоутворення встановлено, що особи з мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають вакцинальну відповідь на введення протигрипозної вакцини на рівні обстежених із нормальним розподілом алелей TLR, про що свідчить досягнутий рівень серопротекції, сероконверсії та динаміка середньгеометричних титрів антитіл на 28 день імунізації. За результатами проведеного аналізу встановлено, що найбільш імуногенним в епідсезони 2011-2014 рр. для носіїв мутантних генотипів виявився компонент вакцини A/H1N1.

Враховуючи, що вакцинація проти грипу веде не лише до попередження даної інфекції, а й до зниження частоти приєднання інших ГРВІ [83], представилося за доцільне проаналізувати клініко-епідеміологічну



ефективність вакцинації в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Оцінку епідеміологічного та клінічного ефекту вакцинації проводили за порівнянням числа епізодів ГРВІ, тяжкості їх перебігу та розвитку ускладнень, що виникали в епідсезон. Аналізували період протягом 6 місяців після вакцинації та аналогічний період року до імунізації.

Аналіз випадків ГРВІ, які реєстрували протягом епідсезону, що передували вакцинації, виявив відмінності перебігу захворювання в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. На ГРВІ до вакцинації вказували особи як з нормальним розподілом алелей, так і з поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 без достовірної різниці між ними, а от за частотою ГРВІ протягом року обстежені відрізнялися в залежності від генотипу досліджуваних TLR. Так, виявилось, що серед осіб із мутантним гомозиготним генотипом Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 відсоток тих, що хворіли на ГРВІ частіше 4 разів протягом епідсезону, був вищим (по 66,7 %), у порівнянні з обстеженими, які мали нормальний розподіл алелей досліджуваних TLR (13,3 %,  $p < 0,03$ ). Серед обстежених із мутантними генотипами Leu/Phe TLR-3 та Asp/Gly TLR-4 даний показник також виявився вищим (38,1 % і 33,3 % відповідно), але вірогідної різниці з носіями нормальних генотипів досліджуваних TLR не мав. Більшість (86,7 %) з тих, хто мав нормальний розподіл алелей генів TLR, хворіли на ГРВІ не частіше 1-3 разів, а серед осіб із поліморфнозміненими генотипами відсоток був наступним: з Leu/Phe TLR-3 – 61,9 %, Asp/Gly TLR-4 – 66,7 %, Phe/Phe TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – по 33,3 %. Не хворіли в попередньому епідсезоні лише 5 (25,0 %) осіб із нормальним розподілом алелей TLR та 2 (8,7 %) з гетерозиготним генотипом Leu/Phe TLR-3.

Аналізуючи перебіг ГРВІ до вакцинації, з'ясовано, що в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 основні синдроми токсикозу і катаральних явищ відрізнялися тяжкістю та тривалістю в порівнянні з

обстеженими із нормальним розподілом алелей TLR. Так, температура тіла у більшості обстежених із мутантними генотипами TLR-3 (Leu/Phe – 70,0 %,  $p < 0,01$  і Phe/Phe – 82,3 %,  $p < 0,01$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (85,7 %,  $p < 0,02$ ) на початку захворювання сягала 39-40° С (при нормальному розподілі алелей TLR – у 32,3 % осіб). У той час як в осіб із нормальним розподілом алелей TLR максимальна температура реєструвалася переважно на рівні 38-39° С – у 58,1 %. Тривалість лихоманки та інших симптомів інтоксикації також була достовірно більшою в обстежених із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. Так, тривалість головного болю склала в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 ( $3,25 \pm 0,37$ ) доби ( $p < 0,001$ ), комбінацією мутантних генотипів TLR – ( $4,28 \pm 1,13$ ) доби ( $p < 0,02$ ) (із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4  $1,85 \pm 0,15$  доби), лихоманки з генотипом Asp/Gly TLR-4 – ( $5,66 \pm 0,33$ ) доби ( $p < 0,005$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – ( $6,71 \pm 1,15$ ) доби ( $p < 0,05$ ) (із нормальним розподілом алелей TLR –  $4,51 \pm 0,23$  доби). Біль у горлі турбував довше осіб із мутантними генотипами TLR-3 (Leu/Phe –  $4,10 \pm 0,55$ ,  $p < 0,1$ ; Phe/Phe –  $4,18 \pm 0,44$ ,  $p < 0,05$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $4,25 \pm 0,62$ ,  $p < 0,1$ ), у порівнянні з обстеженими із нормальним розподілом алелей TLR ( $3,22 \pm 0,28$ ).

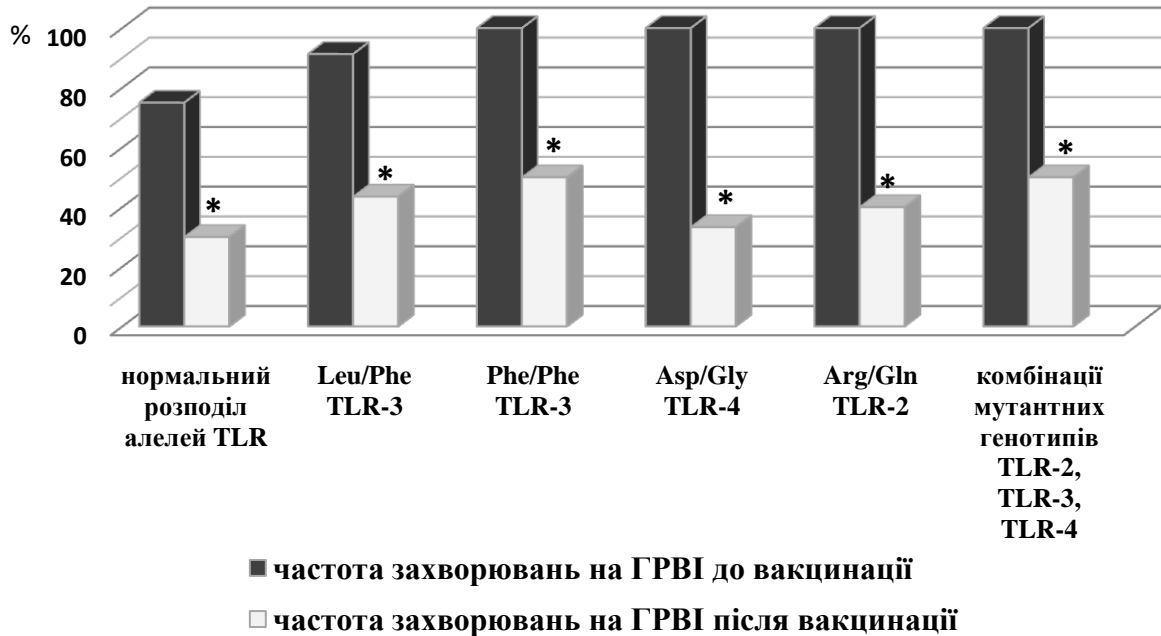
Ускладнений перебіг ГРВІ запальними захворюваннями дихальних шляхів достовірно частіше мали особи із мутантними генотипами досліджуваних TLR: з Leu/Phe TLR-3 – 17 (80,9 %) ( $p < 0,006$ ), Phe/Phe та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – по 6 (100,0 %) ( $p < 0,01$ ) (при нормальному розподілі алелей TLR – 5 (33,3 %)). Серед ускладнень ураження НДШ достовірно частіше реєструвалися в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 та поєднанням їх із TLR-2 і TLR-4. Так, розвиток бронхіту на тлі ГРВІ відмічався у 76,2 % ( $p < 0,005$ ) обстежених із генотипом Leu/Phe TLR-3, по 83,3 % ( $p < 0,01$ ) з Phe/Phe та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 26,7 %). Пневмонію частіше діагностували в осіб

із мутантними генотипами TLR-3 Leu/Phe – у 7,2 (47,6 %,  $p < 0,01$ ), Phe/Phe – у 12,6 (83,3 %,  $p < 0,001$ ), комбінацією мутацій у генах досліджуваних TLR – у 10,1 разу (66,7 %,  $p < 0,01$ ) у порівнянні з обстеженими, які мали нормальний розподіл алелей TLR (6,7 %). В осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 пневмонія, як ускладнення ГРВІ, відмічалася частіше в 5 разів (у 33,3 %), але не мала вірогідної різниці в порівнянні з носіями нормальних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4. А в обстежених із гетерозиготним генотипом Arg/Gln TLR-2 дане ускладнення в попередньому епідсезоні не реєструвалося.

На підставі даних про вираженість токсикозу, терміни появи та характер ускладнень ГРВІ встановлено, що в осіб із мутантними генотипами переважав перебіг захворювання середньої тяжкості, у той час як у більшості (53,3 %) обстежених із нормальним розподілом алелей TLR перебіг захворювання був легкий. Так, особи з генотипом Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 мали винятково (100,0 %) перебіг захворювання середньої тяжкості, у той час як із нормальним розподілом алелей TLR він реєструвався у 46,7 % ( $p < 0,04$ ). В обстежених із мутантними генотипами Arg/Gln TLR-2, Leu/Phe TLR-3 та Asp/Gly TLR-4 перебіг ГРВІ також був частіше середньої тяжкості (80,0 %, 71,4 %, 66,7 % відповідно), проте вірогідної різниці, порівняно з носіями нормальних генотипів досліджуваних TLR, не виявлено.

Катамнестичне спостереження за вакцинованими протягом 6 місяців виявило виражений профілактичний ефект вакцинації по відношенню до наступних ГРВІ в обстежених із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR. Так, відсоток осіб, що хворіли на ГРВІ після вакцинації, зменшився серед обстежених з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,1 (з 91,3 % до 43,5 %,  $p < 0,0005$ ), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 2,0 (з 100,0 % до 50,0 %,  $p < 0,04$ ), Asp/Gly TLR-4 – у 3,0 (з 100,0 % до 33,3 %,  $p < 0,01$ ), Arg/Gln TLR-2 та нормальним розподілом алелей TLR – у 2,5 разу (з 100,0 % до 40,0 %,  $p < 0,03$  та з 75,0 % до 30,0 %,  $p < 0,004$  відповідно) (рис.6.3). Після

вакцинації частота ГРВІ в обстежених із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR достовірно не відрізнялася.

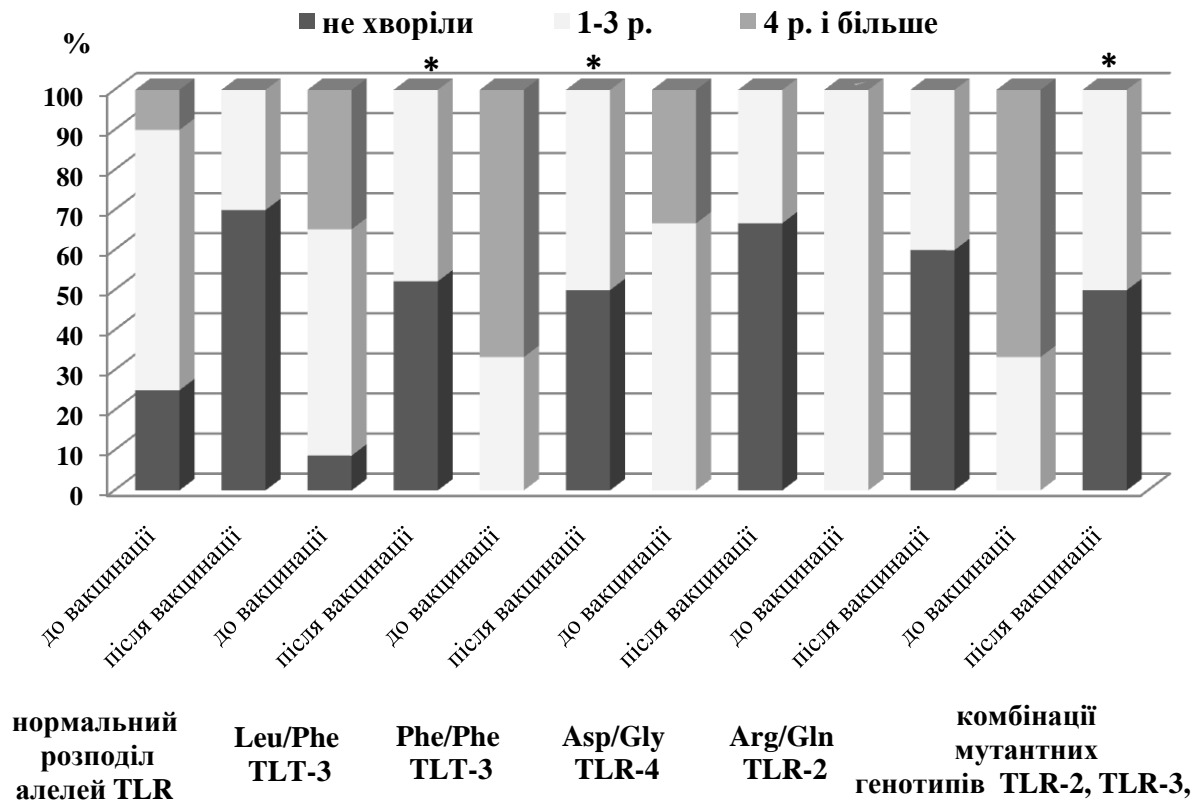


**Рис. 6.3 Частота ГРВІ протягом епідсезону до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

Слід відмітити, що на тлі вакцинації відмічалася зменшення частоти епізодів ГРВІ в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR, які хворіли частіше 4 разів протягом епідсезону до вакцинації. Так, у більшості обстежених із 4 і більше епізодами ГРВІ до вакцинації відмічалася зменшення їх частоти до 1-2 разів: з мутантними генотипами TLR-3 Leu/Phe – у 5 із 8 ( $p < 0,02$ ), Phe/Phe – у 3 із 4, ( $p < 0,05$ ) та з комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 2 із 4 ( $p < 0,05$ ) (рис. 6.4). У решти обстежених, а саме з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 37,5 %, Phe/Phe – 25,0 %, з комбінацією мутантних генотипів TLR-2, TLR-3,

TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR – по 50,0 % жодного випадку ГРВІ в післявакцинальному періоді зареєстровано не було.



**Рис. 6.4 Частота епізодів ГРВІ протягом епідсезону до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка: \*–  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

Вакцинація виявила ефективність і по відношенню до тяжкості та тривалості основних клінічних проявів ГРВІ в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. Тривалість окремих симптомів зменшилася, порівняно з показниками довакцинального періоду і достовірно не відрізнялася від результатів осіб із нормальним розподілом алелей TLR. Так, тривалість лихоманки на тлі вакцинації зменшилася в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 у 1,6 ( $2,86 \pm 0,58$  до вакцинації  $4,68 \pm 0,42$  доби,  $p < 0,05$ ), Asp/Gly TLR-4 у 1,7 ( $3,24 \pm 0,67$  до вакцинації  $5,66 \pm 0,33$  доби,  $p < 0,05$ ), комбінаціями мутацій у генах у 2,1 ( $3,18 \pm 0,94$  до вакцинації  $6,71 \pm 1,15$  доби,  $p < 0,05$ ), із

нормальним розподілом алелей TLR у 1,5 разу ( $2,94 \pm 0,47$  до вакцинації  $4,51 \pm 0,23$ ,  $p < 0,05$ ), кашлю із мутантними генотипами TLR-3 в 1,2 (Leu/Phe –  $4,73 \pm 0,74$  до вакцинації  $5,86 \pm 0,54$ ,  $p < 0,1$ ; Phe/Phe –  $5,13 \pm 1,16$  до вакцинації  $6,06 \pm 0,45$ ,  $p < 0,1$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 в 1,4 ( $5,22 \pm 0,98$  до вакцинації  $7,17 \pm 1,64$ ,  $p < 0,05$ ), із нормальним розподілом алелей TLR в 1,1 разу ( $4,67 \pm 0,32$  до вакцинації  $5,30 \pm 0,44$ ).

Аналіз даних щодо перебігу ГРВІ в післявакцинальному періоді показав, що більшість вакцинованих мала легкий перебіг хвороби. Так, особи із мутантними генотипами TLR-2, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR ГРВІ мали винятково (100,0 %) легкий перебіг, тоді як до вакцинації доля легких та середньотяжких форм була наступною: з генотипом Arg/Gln TLR-2 – 20,0 % і 80,0 %, Asp/Gly TLR-4 – 33,3 % і 66,7 %, нормальним розподілом алелей TLR – 53,3% і 46,7% відповідно (табл. 6.5). Загалом відмічено достовірне зниження відсотка середньотяжкого перебігу ГРВІ на тлі вакцинації в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,4 разу (30,0 %, до вакцинації – 71,4 %,  $p < 0,02$ ), Phe/Phe та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,0 рази (по 33,3 %, до вакцинації – по 100,0 %,  $p < 0,04$ ).

Таблиця 6.5

**Перебіг ГРВІ до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Генотип TLR	Перебіг ГРВІ	До вакцинації		Після вакцинації		Критерій Мак-Немара, p
		абс.	%	абс.	%	
1	2	3	4	5	6	7
Нормальний розподіл алелей TLR (n=20)	легкий	8	53,3	6	100,0	4,20; $p < 0,040$
	середньої тяжкості	7	46,7	0	0,0	

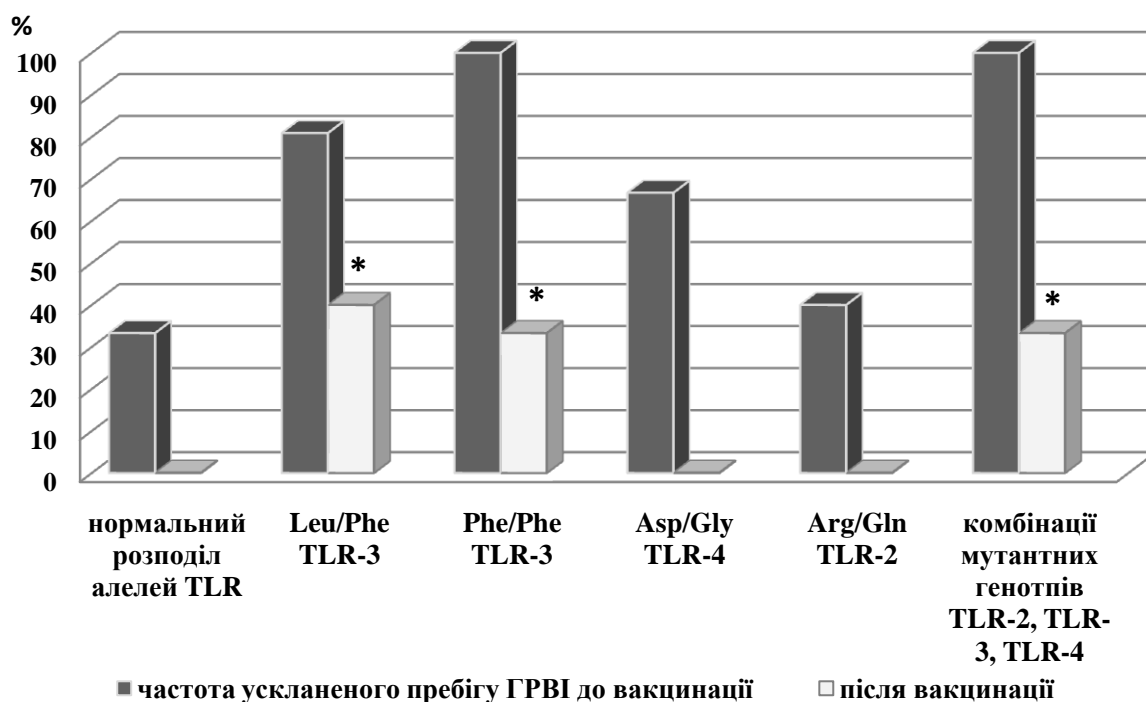
Продовження табл. 6.5

1	2	3	4	5	6	7
Leu/Phe TLR-3 (n=23)	легкий	6	28,6	7	70,0	4,77; p<0,028
	середньої тяжкості	15	71,4	3	30,0	
Phe/Phe TLR-3 (n=6)	легкий	0	0,0	2	66,7	5,14; p<0,023
	середньої тяжкості	6	100,0	1	33,3	
Asp/Gly TLR-4 (n=6)	легкий	2	33,3	2	100,0	2,67; 0,102
	середньої тяжкості	4	66,7	0	0,0	
Arg/Gln TLR-2 (n=5)	легкий	1	20,0	2	100,0	3,73; p<0,053
	середньої тяжкості	4	80,0	0	0,0	
Комбінації мутантних генотипів TLR (n=6)	легкий	0	0,0	2	66,7	5,14; p<0,023
	середньої тяжкості	6	100,0	1	33,3	

Примітка: p – достовірність відмінностей між показниками до та після вакцинації

При аналізі випадків ГРВІ, які виникали після імунізації, встановлено, що вакцинація проти грипу здатна попереджати розвиток ускладнень як в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, так і з нормальним розподілом алелей TLR. Після вакцинації відмічалось достовірне зниження відсотку ГРВІ, що мали ускладнений перебіг в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,0 (з 80,9 % до 40,0 %, p<0,02), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,0 рази (з 100,0 % до 33,3 %, p<0,02) (рис.6.5). В обстежених із генотипом Arg/Gln TLR-2, Asp/Gly TLR-4

та нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR ускладнення після вакцинації не реєструвалися (до вакцинації у 40,0 %, 66,7 % та 33,3 % відповідно,  $p > 0,05$ ).

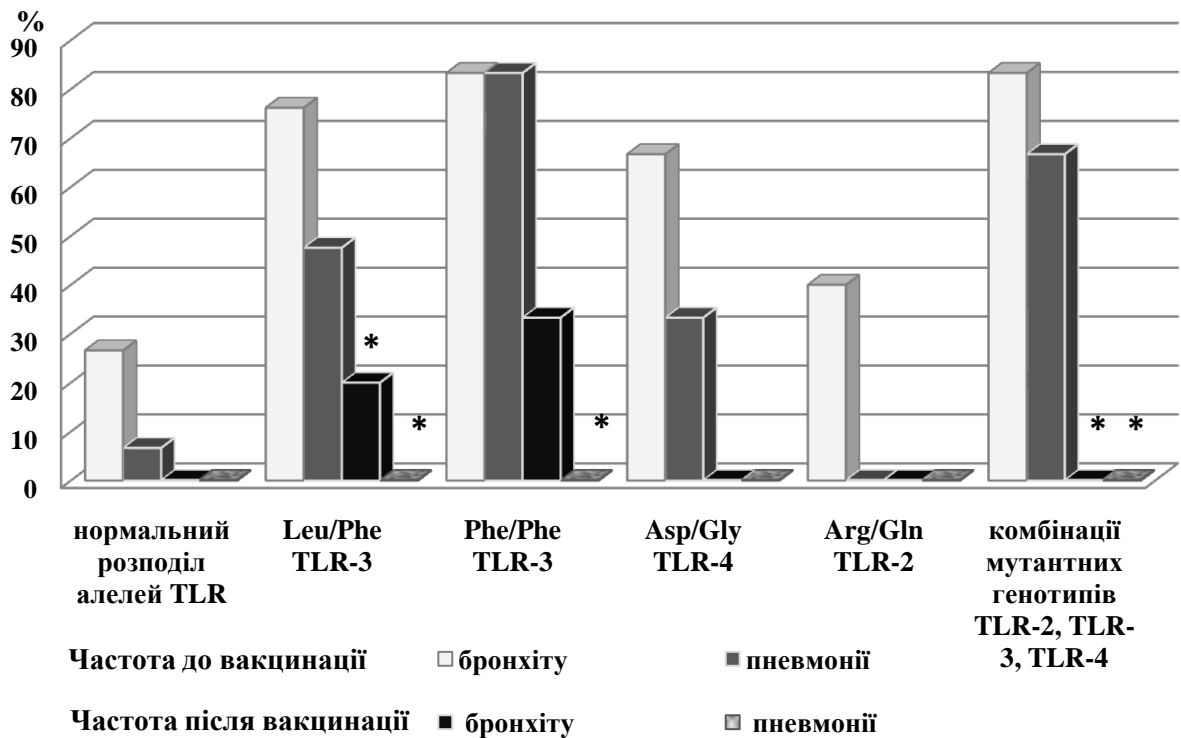


**Рис. 6.5 Частота розвитку ускладнень ГРВІ до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4**

Примітка: \*–  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

Проведені дослідження показали, що вакцинація проти грипу виявилася ефективним методом профілактики ускладнень ГРВІ запальними процесами НДШ в усіх групах вакцинованих. Так, після вакцинації пневмонія, як ускладнення ГРВІ в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, не реєструвалася (рис. 6.6). При цьому достовірно зниження відсотка ускладнення ГРВІ пневмонією відмічалася в осіб із генотипом Leu/Phe (0,0 % до вакцинації 47,6 %,  $p < 0,008$ ) та Phe/Phe TLR-3 (0,0 % до вакцинації 83,3 %,  $p < 0,01$ ) а також із комбінацією мутацій у генах досліджуваних TLR (0,0 % до вакцинації 66,7 %,  $p < 0,05$ ).





**Рис. 6.6** Частота ускладнення ГРВІ запальними процесами НДШ до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

У обстежених із мутантними генотипами TLR-3 відмічалось зменшення частоти ускладнень ГРВІ бронхітом, а саме: з генотипом Leu/Phe – у 3,8 разу (з 76,2 % до 20,0 %,  $p < 0,003$ ), Phe/Phe у 2,5, але без вірогідної різниці, в порівнянні з показником до вакцинації (з 83,3 % до 33,3 % відповідно). В обстежених із нормальним розподілом алелей TLR, поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-4 та їхніми комбінаціями з TLR-3, дане ускладнення після вакцинації протягом епідсезону не реєструвалося, при цьому до імунізації відсоток був наступним: з комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 83,3 % ( $p < 0,01$ ), Asp/Gly TLR-4 – 66,7 %, Arg/Gln TLR-2 – 40,0 %, з нормальним розподілом алелей TLR – 26,7 %.

**Резюме.** Таким чином, проведені дослідження показали імунологічну та клініко-епідеміологічну ефективність специфічної профілактики грипу в

осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Суттєвих відмінностей у формуванні протективного вакцинального імунітету в осіб із поліморфнозміненими генотипами, порівняно з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR не виявлено, про що свідчила динаміка наростання середньгеометричних титрів антитіл до вакцинних штамів А і В, рівень серопротекції та сероконверсії. Клінічна та епідеміологічна ефективність характеризувалася:

– зменшенням випадків ГРВІ в післявакцинальному періоді в осіб із генотипом Leu/Phe, Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – в 2,0 та Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 – в 2,5-3,0 рази;

– запобіганням виникненню пневмонії у всіх вакцинованих; бронхіту в осіб із генотипами Arg/Gln TLR-2, Asp/Gly TLR-4 та у 56,2 % з Leu/Phe і 50,0 % з Phe/Phe TLR-3.

Проведені дослідження дозволяють розглядати вакцинацію проти грипу, як ефективний метод профілактики ГРВІ в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та рекомендувати його застосування в широкій клінічній практиці.

Основні положення розділу знайшли відображення в опублікованих працях автора:

1 Дубинська Г. М. Визначення імунологічної ефективності специфічної профілактики грипу в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, О. М. Ізюмська, С. С. Руденко, О. В. Артемьєва // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14, № 4(48). – С. 63-66.

2 Дубинська Г. М. Оцінка ефективності вакцинації проти грипу в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, І. І. Байбарза // Фармакотерапія інфекційних захворювань: мат. наук.-практ. конф., 24-25 квітня 2014 р. – Київ, 2014. – С. 26-27.

## ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Грип та інші ГРВІ є найбільш масовими захворюваннями, які займають провідне місце у структурі інфекційних хвороб і складають до 80-90 % від усіх випадків інфекційної патології. Грип спричиняє безпосередню шкоду здоров'ю людини, а також знижує захисні сили організму, внаслідок чого він може бути причиною різноманітних захворювань верхніх і нижніх відділів дихальних шляхів, центральної нервової системи, нирок тощо [71].

Відомо, що індивідуальна сприйнятливість організму до інфекцій визначається патогенністю мікроорганізму, факторами навколишнього середовища та станом імунної системи. Різноманіття популяції вірусів грипу зростає за рахунок дивергентного характеру їх мінливості, що веде до одночасної циркуляції ізолятів, які належать до різних еволюційних гілок, формуванню змішаних популяцій та генетичних рекомбінацій між ними. У зв'язку з цим виникає припущення, що виражене генетичне різноманіття вірусів грипу має породжувати і різноманітність відповідних реакцій організму людини, а пошук загальних закономірностей і індивідуальних особливостей імунного реагування входить у число актуальних завдань інфектології та імунології [17]. У патогенезі грипу мають значення не лише генетична мінливість збудника, а й індивідуальні особливості макроорганізму, насамперед, здатність давати адекватну імунну відповідь, що є відображенням його генетичної структури. До генів, які контролюють тип імунної відповіді, чутливість / резистентність до грипу, схильність до різних форм перебігу та розвитку ускладнень, належать, у першу чергу, гени TLR-2, TLR-3, TLR-4 [30]. Відомо, що загальною рисою функціонального поліморфізму генів TLR є зниження здатності до розпізнавання відповідних лігандів, або до проведення внутрішньоклітинного сигналу, що веде до порушення імунної відповіді на проникнення патогену [81]. Порушення механізмів регуляції, вродженої імунної відповіді під впливом поліморфізму генів TLR, часто відіграє вирішальну роль у розвитку низки захворювань

людини, головним чином таких, при яких запалення є ключовим фактором патогенезу [197]. Тому вивчення генетичних маркерів, асоційованих із розвитком грипу та його ускладнень, є актуальним науково-практичним завданням, вирішення якого дозволить прогнозувати тяжкість перебігу та наслідки даної патології.

Враховуючи це, ми поставили собі за мету вдосконалити надання медичної допомоги хворим на грип на основі визначення особливостей клінічного перебігу та оцінки ефективності лікувально-профілактичних заходів залежно від наявності поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Для вирішення поставлених у роботі завдань обстежили 282 особи, серед яких 112 хворих на грип і 170 практично здорових. Оскільки в реалізації патологічного впливу однонуклеотидного поліморфізму мають значення як поліморфнозмінені генотипи, так і мутантні алелі, нами була вивчена поширеність поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 серед хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових. Аналізуючи власні результати молекулярно-генетичного обстеження, ми виявили достовірно вищу поширеність мутантного алеля 412Phe у хворих на грип-асоційовану пневмонію (42,9 %), у порівнянні з неускладненим перебігом грипу (24,6 %,  $p < 0,004$ ) та здоровими (30,0 %,  $p < 0,04$ ), алелі 299Gly TLR-4 та комбінацій мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих на грип (6,4 %,  $p < 0,05$  та 11,1%,  $p < 0,01$  відповідно) та грип-асоційовану пневмонію (7,1 %,  $p < 0,03$  та 14,3 %,  $p < 0,003$  відповідно), у порівнянні з популяційним контролем (1,7 % та 0,0 %).

На сьогодні відомо, що генетичний поліморфізм TLR може підвищувати сприйнятливість, або перешкоджати виникненню появи різних хвороб [29]. Одним із сучасних підходів у запобіганні розвитку будь-якої патології є генетичне прогнозування ризику її формування. Тому визначення генів, асоційованих із розвитком грипу та грип-асоційованої пневмонії, дозволить прогнозувати тяжкість перебігу хвороби, розвиток ускладнень та вчасно провести лікувально-профілактичні заходи з урахуванням

індивідуальних, генетично обумовлених особливостей. Нами встановлено, що маркерами підвищеного ризику розвитку грипу є алель 299Gly і генотип Asp/Gly TLR-4 (OR=4,0 та OR=4,22 відповідно) та поєднання мутантних генотипів Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 (OR=15,0); грип-асоційованої пневмонії – алель 412Phe та генотип Phe/Phe TLR-3 (OR=2,3 та OR=4,5 відповідно).

Дані літератури свідчать, що активовані рецептори сімейства TLR запускають каскад адапторних і сигнальних молекул, активуючи вроджений та адаптивний імунітет. Активація TLR призводить не тільки до індукції запальної реакції, але й до розвитку антиген-специфічного адаптивного імунітету. Адекватна TLR-асоційована відповідь організму обумовлює ефективну ерадикацію вірусу, запобігання розвитку хвороби, а в разі захворювання – видужання пацієнта. Однак, дефіцит збудження рецепторів при взаємодії з лігандами може стати основною причиною тяжкого перебігу хвороби та розвитку ускладнень, а надмірне – зумовити розвиток гострої системної запальної відповіді або виникнення автоімунного процесу [28]. На сьогоднішній день накопичені дані про вплив поліморфізму генів TLR на особливості клінічної картини низки хвороб [165, 243, 250]. Проте при грипі це питання було не вивчене, що і стало нашим наступним завданням. Проведені нами дослідження показали, що грип в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 перебігає типово, проте має клінічні відмінності порівняно з хворими з нормальним розподілом алелей TLR. Так, у пацієнтів із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 вірогідно довше тривали основні клінічні симптоми: температура, головний біль, ломота в тілі, біль у горлі, загальна слабкість, переважав середньотяжкий (54,4 % і 42,9 % відповідно) та тяжкий (36,4 % і 57,1 % відповідно) перебіг із високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії (54,2 % і 50,0 % відповідно).

Перебіг грип-асоційованої пневмонії в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 також мав відмінності. Установлено, що

первинна вірусна пневмонія розвивалася винятково у носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 (Leu/Phe – 44,4 %, OR=18,91, Phe/Phe – 100,0 %, OR=49,30) та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 (42,8 %, OR=22,55). За клінічними ознаками первинна вірусна пневмонія відрізнялася від вторинної вірусно-бактеріальної та бактеріальної пневмонії раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного (63,1 %,  $p<0,05$  і  $p<0,1$  відповідно), багаточасткового (47,4 %,  $p<0,002$  і  $p<0,1$  відповідно) ураження легень, тяжким перебігом (63,1 %,  $p<0,02$  і  $p<0,1$  відповідно) з тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (36,8 %,  $p<0,001$  і  $p<0,1$  відповідно) та поліорганної недостатності (42,1 %,  $p<0,0006$  і  $p<0,1$  відповідно), вищою летальністю (21,0 %,  $p<0,02$ ).

Наші дослідження також виявили асоціацію поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 із тяжким перебігом первинної вірусної пневмонії. Доведено, що ризик розвитку тяжкого перебігу вищий в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 – в 21,0 (87,5 %,  $p<0,04$ , OR=21,0), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – в 18,2 разу (100,0 %,  $p<0,05$ , OR=18,2).

При аналізі перебігу вторинної вірусно-бактеріальної грип-асоційованої пневмонії нами встановлено, що в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 також переважав тяжкий перебіг (55,6 %  $p<0,05$  і 50,0 %,  $p<0,05$  відповідно) з двобічним ураженням легень (55,6 %,  $p<0,05$ , і 75,0 %,  $p<0,04$  відповідно).

У подальшому представилося за доцільне простежити зв'язок етіології грип-асоційованої пневмонії, тяжкості її перебігу та наслідків із певним типом вірусу, а також дослідити вплив поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на тяжкість перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від збудника грипу. Проведені дослідження показали, що частота тяжкого перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від підтипу вірусу грипу А вірогідно не відрізнялася і склала при грипі А/Н1N1 – 42,4 %, А/Н3N2 – 50,0 %. При грипі В у хворих реєструвався лише перебіг середньої тяжкості.

Дослідження зв'язку етіології грип-асоційованої пневмонії з певним серотипом вірусу грипу асоціації не виявило. Первинну вірусну пневмонію при грипі А/Н1N1 діагностували у 12 (36,4 %), А/Н3N2 – у 6 (42,8 %), В – у 1 (50,0 %) пацієнта, вторинну вірусно-бактеріальну у 19 (57,6 %), 5 (37,5 %), та 1 (50,0 %) відповідно. Бактеріальну пневмонію верифікували при грипі А/Н1N1 у 2 (6,1 %) пацієнтів, А/Н3N2 – у 3 (21,4 %). Летальність при грипі асоційованій пневмонії, яка ускладнювала перебіг грипу А/Н1N1, склала 21,4 %, що виявилось в 3,5 разу вище, порівняно з А/Н3N2 – 6,1 %, проте вірогідної різниці між показниками не було.

При вивченні впливу поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на тяжкість перебігу грип-асоційованої пневмонії в залежності від збудника грипу встановлено, що тяжкий перебіг пневмонії при грипі А/Н1N1 вірогідно частіше мали особи з гомозиготним генотипом Phe/Phe TLR-3 – 85,7 % (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 22,2 %,  $p < 0,04$ ). У пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3 тяжкий перебіг виявлявся в 2 рази частіше – у 45,5 %, проте вірогідної різниці з носіями нормальних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 не виявлено. Пневмонія при грипі А/Н3N2 мала тяжкий перебіг у 50,0 % пацієнтів із генотипом Leu/Phe TLR-3, у 100,0 % з Phe/Phe TLR-3 і комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 та у 25,0 % із нормальним розподілом алелей TLR. При грипі В стовідсотково відмічався перебіг пневмонії середньої тяжкості.

Таким чином, дослідження патоморфозу клінічних проявів грипу і грип-асоційованих пневмоній та впливу етіологічного чинника на перебіг хвороби в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 свідчить, що в прогресуванні запалення суттєву роль відіграють зміни імунологічного статусу та генетичний фон. Привертало увагу те, що у пацієнтів як із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4, які отримували противірусну терапію на догоспітальному етапі, перебіг грип-асоційованих пневмоній був середньої тяжкості.

Отже, результати проведеного аналізу обґрунтували необхідність індивідуалізації лікувально-діагностичної тактики в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при грипі, яка включає: призначення протівірусних препаратів із першого дня хвороби; обов'язкову госпіталізацію в профільний стаціонар, незалежно від тяжкості перебігу грипу з метою забезпечення динамічного спостереження, виконання повного обсягу діагностичних досліджень та своєчасної корекції лікування в разі виникнення ускладнень; проведення рентгенографії органів грудної клітини в перші 3 доби у зв'язку з високим ризиком розвитку вірусної пневмонії.

Враховуючи отриманні дані представилося за доцільне проаналізувати зв'язок наявності поліморфнозмінених генотипів із запальними захворюваннями дихальних шляхів. При вивченні преморбідного фону з'ясувалося, що на ГРВІ вірогідно частіше хворіли особи з генотипами Leu/Phe TLR-3 (91,2 %), Phe/Phe TLR-3 (100,0 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями нормальних генотипів TLR (69,4 %,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,05$  відповідно). Вірогідно вищим у цих категорій осіб виявився також відсоток тих, які хворіли на ГРВІ 4 і більше разів протягом року: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – 38,2 % ( $p < 0,003$ ), Phe/Phe TLR-3 – 72,7 % ( $p < 0,00006$ ), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 62,5 % ( $p < 0,002$ ) (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 8,3 %). Отримані нами дані співпадають із результатами досліджень інших вчених, які також звертали увагу на асоціацію мутантного алелю 299Gly TLR-4 та 412Phe TLR-3 із високою сприйнятливістю до гострих респіраторних вірусних інфекцій [52, 220]. Закономірним для осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 виявилось приєднання при ГРВІ запальних процесів нижніх дихальних шляхів: при генотипі Leu/Phe TLR-3 – у 61,8 % ( $p < 0,05$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 90,9 % ( $p < 0,001$ ), Asp/Gly TLR-4 – у 100,0 % ( $p < 0,02$ ) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 87,5 % ( $p < 0,01$ ), (при



нормальному розподіл алелей TLR – у 35,3 %). Розвиток бронхіту на тлі ГРВІ відмічався у 64,5 % ( $p < 0,03$ ) обстежених з генотипом Leu/Phe TLR-3, 81,8 % ( $p < 0,01$ ) з Phe/Phe TLR-3, 75,0 % ( $p < 0,05$ ) з Asp/Gly TLR-4, 87,5 % ( $p < 0,01$ ) комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 32,0 %), пневмонії – у 23,5 % ( $p < 0,04$ ) осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3, 45,5 % ( $p < 0,01$ ) з Phe/Phe TLR-3 та 50,0 % ( $p < 0,02$ ) з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 8,0 %).

Отримані нами результати підтверджувалися і розрахованим коефіцієнтом відношення шансів, за даними якого ризик розвитку запальних процесів нижніх дихальних шляхів при ГРВІ був вищий в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 в 2,9 (OR=2,9), Phe/Phe TLR-3 – в 20,0 (OR=20,0), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – в 12,8 разу (OR=12,8), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR.

При поглибленому загально-клінічному обстеженні встановлено, що хронічні запальні захворювання верхніх дихальних шляхів також вірогідно частіше мали місце в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. Так, тонзиліт виявлявся у 44,1 % ( $p < 0,03$ ) носіїв генотипу Leu/Phe TLR-3, 54,4 % ( $p < 0,04$ ) – Phe/Phe TLR-3, 80,0 % ( $p < 0,01$ ) – Arg/Gln TLR-2, 75,0 % ( $p < 0,04$ ) – Asp/Gly TLR-4, 62,5 % ( $p < 0,02$ ) – комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 19,4 %). Синусит реєструвався достовірно частіше в осіб із комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (37,5 %) (при нормальному розподілі алелей генів TLR – 5,6 %,  $p < 0,03$ ). Із наукових джерел відомо, що в розпізнаванні вірусу простого герпесу задіяні TLR-2 та TLR-3, а поліморфізм їх генів веде до тяжкого перебігу хвороби та частих рецидивів [130, 206, 255]. Аналіз преморбідного фону в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 показав, що клінічно маніфестні форми простого герпесу

достовірно частіше відмічали особи з генотипами Leu/Phe TLR-3 (70,6 %), Phe/Phe TLR-3 (90,9 %), Asp/Gly TLR-4 (100,0 %), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (41,7 %,  $p < 0,02$ ,  $p < 0,006$ ,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,004$  відповідно). Частота рецидивів 4 і більше протягом року також виявилася більшою серед обстежених із генотипом Leu/Phe TLR-3 – 23,5 %, Phe/Phe TLR-3 – 54,5 %, комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 62,5 %, ніж при нормальному розподілі алелей генів TLR (5,6 %,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,0009$ ,  $p < 0,02$  відповідно). Отже, отримані нами дані співпадають із результатами досліджень інших вчених, які вказували на роль генетичної складової у порушенні імунної відповіді на вірус простого герпесу [129, 206]. Схильність до вірусних інфекцій в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 підтвержувалася даними аналізу про перенесені дитячі інфекції. Так на вітряну віспу вірогідно частіше вказували особи з генотипом Leu/Phe TLR-3 (82,3 %), Phe/Phe TLR-3 (90,9 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 52,8 %,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,01$  відповідно), кір – з генотипом Phe/Phe TLR-3 (45,5 %), Arg/Gln TLR-2 (60,0 %), Asp/Gly TLR-4 (75,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 13,9 %,  $p < 0,03$ ,  $p < 0,04$ ,  $p < 0,02$  відповідно), паротит – з Asp/Gly TLR-4 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (по 50,0 %) (при нормальному розподілі алелей TLR – 11,1 %,  $p < 0,02$  і  $p < 0,05$  відповідно).

Отримані дані підтверджувалися результатами кореляційного аналізу. Встановлено, що генотипи Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3, а також їхні комбінації з Arg/Gln TLR-2 та Asp/Gly TLR-4 мають прямий кореляційний зв'язок із ГРВІ ( $\phi = 0,371$ ,  $\phi = 0,305$ ,  $\phi = 0,332$  відповідно) з частими (більше 4 на рік) епізодами протягом року ( $\phi = 0,390$ ,  $\phi = 0,536$ ,  $\phi = 0,508$  відповідно), ускладненим перебігом запальними процесами НДШ ( $\phi = 0,384$ ,  $\phi = 0,478$ ,  $\phi = 0,421$  відповідно), тонзилітом ( $\phi = 0,570$ ,  $\phi = 0,654$ ,  $\phi = 0,654$  відповідно),

бронхітом ( $\varphi=0,383$ ,  $\varphi=0,525$ ,  $\varphi=0,531$  відповідно), пневмонією ( $\varphi=0,356$ ,  $\varphi=0,547$ ,  $\varphi=0,499$  відповідно), простим герпесом ( $\varphi=0,379$ ,  $\varphi=0,411$ ,  $\varphi=0,445$ , відповідно) з частотою рецидивів 4 і більше протягом року ( $\varphi=0,346$ ,  $\varphi=0,490$ ,  $\varphi=0,508$  відповідно). Крім того, спостерігалася кореляція комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 із синуситом ( $\varphi=0,547$ ) та гетерозиготного генотипу Asp/Gly TLR-4 із ускладненим перебігом ГРВІ запальними процесами НДШ ( $\varphi=0,402$ ), зокрема, бронхітом ( $\varphi=0,354$ ). Результатами кореляційного аналізу підтверджувався також зв'язок поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 із дитячими повітряно-краплинними інфекціями: з кором – генотипів Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,326$ ), Arg/Gln TLR-2 ( $\varphi=0,381$ ), Asp/Gly TLR-4 ( $\varphi=0,458$ ), вітряною віспою – Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,314$ ,  $\varphi=0,332$  відповідно) та комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,374$ ), паротитом – Asp/Gly TLR-4 ( $\varphi=0,324$ ) і комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,388$ ), а також хронічною патологією шлунково-кишкового тракту: панкреатитом – Leu/Phe і Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,379$  і  $\varphi=0,624$  відповідно) та комбінацій поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $\varphi=0,323$ ), холециститом – Phe/Phe TLR-3 ( $\varphi=0,391$ ).

Отже, результати проведеного аналізу свідчать про наявність в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 підвищеної схильності до ГРВІ, що ускладнюються запальними процесами нижніх дихальних шляхів, тяжкого перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії з розвитком ГРДС та ПОН. Отримані дані дозволяють віднести осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, та Asp299Gly TLR-4 до груп високого ризику розвитку ускладнень при грипі та обумовлюють необхідність індивідуалізації лікувально-профілактичної тактики. Тому наступним етапом нашого дослідження стало вивчення ефективності протигрипозної вакцинації в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

Проведені дослідження показали відсутність суттєвих відмінностей у формуванні протективного вакцинального імунітету в осіб із поліморфнозміненими генотипами, порівняно з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR. При дослідженні рівня серопротекції в групах, обстежених до та через 28 днів після вакцинації, встановлено зростання відсотку осіб із протективним титром до всіх штамів грипу як серед вакцинованих із мутантними генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4. При цьому достовірно вищим рівень серопротекції виявився до серотипу A/H1N1 в осіб із нормальним розподілом алелей TLR та генотипом Leu/Phe TLR-3, з тенденцією до вірогідності до серотипу A/H3N2 – з Leu/Phe TLR-3 і A/H1N1 – з генотипом Arg/Gln TLR-2. Аналіз рівня сероконверсії показав, що вакцинальна відповідь в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 не залежала від початкового рівня специфічних антитіл та визначалася на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR, а до штаму A/H1N1 виявилася вірогідно вищою у вакцинованих із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2 і Leu412Phe TLR-3. При порівнянні середньгеометричних титрів після вакцинації в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR встановлено, що вакциновані з поліморфнозміненими генотипами TLR мали достовірно вищі показники до окремих вакцинних штамів. Так, середньгеометричні титри до штаму A/H1N1 виявилися вищими в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 у 2,4 ( $p < 0,005$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 4,2 ( $p < 0,001$ ), Arg/Gln TLR-2 – у 3,0 ( $p < 0,02$ ), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,3 разу ( $p < 0,01$ ), у порівнянні з вакцинованими з нормальним розподілом алелей TLR. До штаму A/H3N2 відповідний показник був достовірно вищим у вакцинованих із генотипом Arg/Gln TLR-2 ( $p < 0,0005$ ).

Враховуючи, що вакцинація проти грипу веде не лише до попередження даної інфекції, а й до зниження частоти приєднання інших ГРВІ [83], нами проаналізована клініко-епідеміологічна ефективність

вакцинації в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4. Для реалізації цього завдання було проведене порівняння числа епізодів ГРВІ, тяжкості їх перебігу та розвитку ускладнень, що виникали в епідсезон. При катамнестичному спостереженні за вакцинованими виявлено виражений профілактичний ефект вакцинації по відношенню до наступних ГРВІ в обстежених із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR. Так відсоток осіб, що хворіли на ГРВІ після вакцинації зменшився серед обстежених із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,1 (з 91,3 % до 43,5 %,  $p < 0,0005$ ), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 2,0 (з 100,0 % до 50,0 %,  $p < 0,04$ ), Asp/Gly TLR-4 – у 3,0 (з 100,0 % до 33,3 %,  $p < 0,01$ ), Arg/Gln TLR-2 та нормальним розподілом алелей TLR – у 2,5 разу (з 100,0 % до 40,0 %,  $p < 0,03$  та з 75,0 % до 30,0 %,  $p < 0,004$  відповідно). На тлі вакцинації відмічено зменшення і частоти епізодів ГРВІ в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR, які хворіли частіше 4 разів протягом епідсезону до вакцинації. Так, у більшості обстежених із 4 і більше епізодами ГРВІ до вакцинації частота їх зменшилася до 1-2 разів, а саме, з мутантними генотипами TLR-3 Leu/Phe ( $p < 0,02$ ), Phe/Phe ( $p < 0,05$ ) та з комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 ( $p < 0,05$ ). У решти обстежених, з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 37,5 %, Phe/Phe – у 25,0 %, з комбінацією мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR – по 50,0 %, жодного випадку ГРВІ в післявакцинальному періоді не реєструвалося.

Аналіз перебігу ГРВІ в післявакцинальному періоді показав, що особи з мутантними генотипами TLR-2, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR ГРВІ мали винятково (100,0 %) легкий перебіг, тоді як до вакцинації доля легких та середньотяжких форм була наступною: з генотипом Arg/Gln TLR-2 – 20,0 % і 80,0 %, Asp/Gly TLR-4 – 33,3 % і 66,7 %, нормальним розподілом алелей TLR – 53,3 % і 46,7 % відповідно. Відмічено достовірне зниження відсотка середньотяжкого перебігу ГРВІ у вакцинованих із

генотипом Leu/Phe TLR-3 – в 2,4 разу ( $p < 0,02$ ), Phe/Phe та комбінацією мутацій в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,0 рази ( $p < 0,04$ ).

При аналізі випадків ГРВІ, які виникали після імунізації, встановлено, що вакцинація проти грипу здатна попереджати розвиток ускладнень як в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, так і з нормальним розподілом алелей TLR. Після вакцинації відмічалось достовірне зниження відсотку ГРВІ, що мали ускладнений перебіг: в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,0 (з 80,9 % до 40,0 %,  $p < 0,02$ ), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,0 рази (з 100,0 % до 33,3 %,  $p < 0,02$ ). В обстежених із генотипом Arg/Gln TLR-2, Asp/Gly TLR-4 та нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR ускладнення після вакцинації не реєструвалися взагалі (до вакцинації у 40,0 %, 66,7 % та 33,3 % відповідно,  $p > 0,05$ ).

Вакцинація проти грипу виявилася ефективним засобом профілактики ускладнень ГРВІ запальними процесами НДШ в усіх групах вакцинованих. Так, після вакцинації пневмонія, як ускладнення ГРВІ в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, не реєструвалася. При цьому відсоток цього ускладнення до вакцинації складав: в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – 47,6 %, Phe/Phe TLR-3 – 83,3 %, комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 66,7 %.

В обстежених із мутантними генотипами TLR-3 відмічалось зменшення частоти ускладнень ГРВІ бронхітом, а саме: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 3,8 разу (з 76,2 % до 20,0 %,  $p < 0,003$ ), Phe/Phe у 2,5, але без вірогідної різниці, в порівнянні з показником до вакцинації (з 83,3 % до 33,3 % відповідно). В обстежених із нормальним розподілом алелей TLR, поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-4 та їхніми комбінаціями з TLR-3, дане ускладнення після вакцинації протягом епідсезону не реєструвалося, при цьому до імунізації відсоток був наступним: з комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 83,3 % ( $p < 0,01$ ), Asp/Gly TLR-4 – 66,7 %, Arg/Gln TLR-2 – 40,0 %, з нормальним розподілом

алелей TLR – 26,7 %. Отримані результати дослідження імунологічної та клініко-епідеміологічної ефективності вакцинації проти грипу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 дозволяють її використовувати як основний засіб профілактики.

Таким чином, у дисертаційній роботі нами була досліджена поширеність поліморфізму генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 серед хворих на грип та практично здорових осіб і визначені генотипи та алелі схильності до розвитку грипу та грип-асоційованих пневмоній. Проведений аналіз клініко-лабораторних характеристик грипу та грип-асоційованих пневмоній в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 дозволив визначити генетичні маркери ризику тяжкого перебігу грипу, грип-асоційованих пневмоній із розвитком ГРДС і ПОН та індивідуалізувати лікувально-профілактичні заходи. Наведено поглиблене клініко-анамнестичне обстеження та доведений зв'язок із запальними захворюваннями верхніх і нижніх дихальних шляхів у осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Проведені дослідження ефективності специфічної імунопрофілактики грипу в осіб із мутантним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 дозволяють розглядати вакцинацію як ефективний метод профілактики та рекомендувати його застосування в широкій клінічній практиці.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає в удосконаленні надання медичної допомоги хворим на грип на основі визначення клінічних особливостей перебігу та оцінки ефективності лікувально-профілактичних заходів залежно від наявності поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

1 Грип і грипоподібні захворювання – одна з найактуальніших медичних та соціальних проблем у зв'язку з високою питомою вагою в інфекційній патології (80-90 %), і розвитком ускладнень, що виникають переважно в пацієнтів із груп ризику. У 30 % пацієнтів, які раніше вважалися здоровими, також можливий тяжкий і ускладнений перебіг грипу, що обумовлює необхідність подальшого вивчення факторів, які впливають на перебіг та наслідки хвороби. Вивчення ролі поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при грипі дозволить удосконалити діагностику, прогнозувати перебіг та індивідуалізувати лікувально-профілактичну тактику з урахуванням особливостей імунного реагування.

2 Поширеність мутантного алелю 299Gly TLR-4 у хворих із неускладненим перебігом грипу складає 6,4 %, з грип-асоційованими пневмоніями – 7,1 %, що перевищує показники популяційного контролю у 3,8-4,3 разу (1,7 %,  $p < 0,05$ ). Мутантний алель 412Phe TLR-3 достовірно частіше зустрічається у хворих на грип-асоційовану пневмонію (42,9 %), у порівнянні з неускладненим перебігом грипу (24,6 %,  $p < 0,01$ ) та здоровими (30,0 %,  $p < 0,05$ ). Генотип Arg753Gln TLR-2 у хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію реєструється в комбінаціях із мутантними генотипами TLR-3 і TLR-4 з частотою 11,1 % і 14,3 % відповідно ( $p < 0,01$ ).

3 Особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх та нижніх



дихальних шляхів, ГРВІ з частотою епізодів 4 і більше протягом року. Згідно коефіцієнта відношення шансів ризик розвитку бронхіту та пневмонії при ГРВІ вищий в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,9 ( $p<0,05$ ), Phe/Phe TLR-3 – у 20,0 ( $p<0,001$ ), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 12,8 разу ( $p<0,01$ ).

4 Грип в осіб із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 має особливості клінічного перебігу: вірогідно довше (на 1-3 доби,  $p<0,05$ ) тривають основні клінічні симптоми (температура, головний біль, ломота в тілі, біль у горлі, загальна слабкість), переважає середньотяжкий (54,4 % і 42,9 % відповідно) та тяжкий (36,4 % і 57,1 % відповідно) перебіг із високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії (54,2 % і 50,0 % відповідно).

5 В осіб без загально визнаних факторів ризику ускладненого перебігу грипу первинна вірусна пневмонія розвивається винятково у носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 (Leu/Phe – 44,4 %, OR=18,91, Phe/Phe – 100,0 %, OR=49,3) та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 (42,8 %, OR=22,55) і характеризується: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного (63,1 %), багаточасткового (47,4 %) ураження легень, тяжким перебігом (63,1 %) з тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (36,8 %) та поліорганної недостатності (42,1 %), високою летальністю (21,0 %).

Вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом (55,6 % і 50,0 % відповідно) із двобічним ураженням легень (55,6 % і 75,0 % відповідно).

6 Вакцинація проти грипу осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 є ефективною з імунною

відповіддю на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, про що свідчить динаміка наростання середньгеометричних титрів антитіл до вакцинних штамів, рівень серопротекції та сероконверсії, і підтверджується клініко-епідеміологічними даними – зменшенням випадків ГРВІ в післявакцинальному періоді в 2,0-3,0 рази ( $p < 0,01$ ); запобіганням пневмонії в усіх вакцинованих та зменшенням частоти розвитку бронхіту в 2,5-3,8 рази ( $p < 0,01$ ).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1 Для виявлення контингенту осіб із високим ризиком розвитку тяжкого та ускладненого перебігу грипу рекомендовано визначати поліморфізм генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4, у першу чергу особам із частими ГРВІ (більше 4 разів на рік), що ускладнюються запальними захворюваннями нижніх дихальних шляхів.

2 У практичній діяльності сімейним лікарям та лікарям-інфекціоністам необхідно враховувати, що особи з поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 та комбінаціями з Arg753Gln TLR-2 потребують індивідуалізації лікувально-діагностичної тактики при грипі:

- призначення противірусних препаратів із першого дня хвороби;
- обов'язкової госпіталізації в профільний стаціонар для динамічного спостереження;
- рентгенографії органів грудної клітини на першому тижні у зв'язку з високим ризиком розвитку вірусної пневмонії.

3 Особам із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 без інших факторів ризику ускладнень при грипі, слід обов'язково проводити специфічну імунопрофілактику в зв'язку з високою ймовірністю розвитку тяжкого перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії.

4 У лікувально-профілактичних закладах інфекційного профілю (обласних, міських, районних) рекомендується впровадити спосіб прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованих пневмоній шляхом визначення поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 у відповідності з розробленим інформаційним листом № 179-2014 «Прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії».

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абатуров А. Е. Молекулярные механизмы неспецифической защиты респираторного тракта / А. Е. Абатуров, О. Ю. Потоцкая, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 4, № 7. – С. 124–130.
2. Абатуров А. Е. Молекулярные механизмы неспецифической защиты респираторного тракта: распознавание патоген-ассоциированных молекулярных структур / А. Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2006. – Т. 2, № 2. – С. 14–18.
3. Абатуров А. Е. Роль интерферонов в защите респираторного тракта. Каскад возбуждения системы интерферонов / А. Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 5, № 8. – С. 93–101.
4. Абатуров А. Е. Роль интерферонов в защите респираторного тракта. Часть 2. Механизмы действия интерферонов / А. Е. Абатуров, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 6, № 9. – С. 111–118.
5. Абатуров А. Е. Роль TOLL-подобных рецепторов в рекогниции патоген-ассоциированных молекулярных структур инфекционных патогенных агентов и развитии воспаления. Часть 1. Семейство TLR / А. Е. Абатуров, А. П. Волосовец, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2012. – Т.5, № 40. – С. 116–121.
6. Абатуров А. Е. Молекулярные механизмы неспецифической защиты респираторного тракта / А.Е. Абатуров, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 1, № 4. – С. 123–127.
7. Абатуров А. Е. Роль Toll-подобных рецепторов в рекогниции патоген-ассоциированных молекулярных структур инфекционных патогенных агентов и развитии воспаления. Часть 3. Рекогниция лигандов TLR / А. Е. Абатуров, А. П. Волосовец, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. – 2012. – Т. 7, № 42. – С. 157–164.
8. Абросимов В. Н. Клинические особенности грипп-ассоциированной внебольничной пневмонии тяжелого течения / В. Н. Абросимов,

- Е. В. Алмазова // Российский медико-биологический вестник. – 2010. – № 3. – С. 55–60.
9. Александрова М. А. Пневмония как осложнение гриппа / М. А. Александрова // Русский медицинский журнал. – 2006. – № 2. – С. 90–95.
  10. Афанасьева О. И. Клиника, иммунопатогенез и противовирусная терапия современного гриппа у детей: автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. мед. наук. : спец. 14.01.09 «Инфекционные болезни» / О. И. Афанасьева. – Санкт-Петербург, 2012. – 34 с.
  11. Баранцева И.Б. Гуморальный и локальный иммунный ответ на гриппозные вакцины у пожилых и молодых людей / И. Б. Баранцева, А. Н. Найхин, С. А. Донина // Вопр. вирусологии. – 2003. – № 2. – С. 32–36.
  12. Байракова О. Л. Роль и биологическое значение толл-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма / О. Л. Байракова, Е. А. Воропаева, С. С. Афанасьева [и др.] // Вестник Российской АМН. – 2008. – № 1. – С. 45–54.
  13. Белякова В. Д. Введение в эпидемиологию инфекционных и неинфекционных заболеваний человека / В. Д. Белякова, Г. А. Семенович, М. К. Шрага. – Москва : Медицина, 2001. – 262 с.
  14. Белокопытов А. В. Основы статистики. Курс лекций / А. В. Белокопытов. – Смоленск: НОУ ВПО СИБП, 2007. – 108с.
  15. Богомолова И. К. Возрастные особенности течения внебольничных пневмоний у детей в период эпидемии гриппа А/Н1N1/09 / И. К. Богомолова, С. А. Чаванина, Н. В. Левченко // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 3. – С. 116–119.
  16. Болдырев М. Н. HLA и естественный отбор. Гипотеза «преимущества функциональной гетерозиготности» / М. Н. Болдырев, Л. П. Алексеев // Иммунология. – 2006. – Т. 27. – № 3. – С. 172–176.

17. Бокова Н. О. Клинико-лабораторная характеристика современного течения гриппа / Н.О. Бокова : автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 14.01.09 – «Инфекционные болезни» / Н. О. Бокова. – Москва, 2013. – 24 с.
18. Бурцева Е. И. Специфическая профилактика гриппа в условиях современного эпидемического процесса : автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. мед. наук : спец. 14.01.09 «Инфекционные болезни» / Е. И. Бурцева. – Москва, 2005. – 52 с.
19. Варивода А. С. Рецепторы врожденного иммунитета: ассоциированные с Toll-подобными рецепторами функции клеток иммунной системы в норме и при первичных иммунодефицитах : автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 14.00.36 «Аллергология и иммунология» / А.С. Варивода. – Москва, 2008. – 25 с.
20. Васильева Г. И. Цитокины – общая система гомеостатической регуляции клеточных функций / Г. И. Васильева, И. А. Иванова, С. Ю. Тюкавкина // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 305–310.
21. Вирусиндуцированная пневмония / В. А. Шестовицкий, Ю. И. Гринштейн, А. И. Аристов [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. – Т. 69, № 3. – С. 94–97.
22. Влияние рецепторного антагониста ИЛ-1 на развитие оксидативного стресса в легких / Л. Н. Данилов, Е. С. Лебедева, И. В. Двораковская [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 14–20.
23. Возианова Ж. И. Пандемия гриппа А (H1N1): особенности течения и несостоявшиеся прогнозы / Ж. И. Возианова, О. А. Голубовская // Сучасні інфекції. – 2010. – № 2. – С. 4–11.
24. Волкова Л. В. Препараты интерферона в терапии гриппа и ОРВИ (обзор литературы) / Л. В. Волкова, А. Л. Бондаренко, Н. А. Савиных // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 1. – С. 43–46.

25. Гаврилов А. В. Цитохимия липидов нейтрофильных лейкоцитов периферической крови у больных гриппом А(Н3N2) / А. В. Гаврилов // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2006. – № 22. – С. 36–39.
26. Ганковская О. А. Молекулярно-генетические механизмы врожденного иммунитета на уровне слизистых оболочек при патологии инфекционного генеза : автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. мед. наук : спец. 14.03.09 «Клиническая иммунология, алергология» / О.А. Ганковская. – Москва, 2010. – 49 с.
27. Генерация в культуре *in vitro* и характеристика регуляторных Т-клеток человека / Е. В. Курганова, Е. Я. Шевела, МА. Тихонова [и др.] // Мед. иммунология. – 2008. – Т. 10, № 2–3. – С. 173–180.
28. Генетичний поліморфізм Asp299Gly гена Тол-подібного рецептора 4 в дітей із хелікобактерною інфекцією / О. Є. Абатуров, О. М. Герасименко, О. А. Шликова [та ін.] // Здоровье ребенка. – 2013. – Т. 6, № 49. – С. 14–18.
29. Генетическая диагностика: полиморфизм генов / Ф. Ф. Ризванова, О. И. Пикуза, Р. А. Файзуллина [и др.] // Практическая медицина. – 2010. – № 45. – С. 41–43.
30. Генетический полиморфизм иммуногенной сигнальной системы / В. Н. Цыган, А. М. Иванов, Т.А. Камилова [и др.] // Журн. инфектологии. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 21–27.
31. Голубовская О. А. Грипп. Клиническая лекция (часть первая) / О. А. Голубовская // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – Т. 1, № 4. – С. 80–95.
32. Глумчер Ф. С. Интенсивная терапия у больных с тяжелым гриппом (обзор литературы, собственные наблюдения) / Ф. С. Глумчер // Сучасні інфекції. – 2010. – № 2. – С. 22–32.
33. Грип (сезонний і пандемічний) : методичні рекомендації / В. П. Малий, О. К. Полукчи, М. А. Андрейчин [та ін.] – Харків, 2010. – 54 с.

34. Дзюблик І. В. Віруси грипу людини та грип: Сучасний погляд на етіопатогенез / І. В. Дзюблик, В. П. Широбоков, С. І. Климнюк // Інфекційні хвороби. – 2009. – № 4. – С. 82–95.
35. Дикий Б. М. Клініко-патогенетичні особливості перебігу грипу з летальним наслідком / Б. М. Дикий, І. Г. Грижак, О. Я. Пришляк // Сучасні інфекції. – 2010. – № 1. – С. 40–43.
36. Друцкая М.С. Врожденное распознавание вирусов / М. С. Друцкая, П. В. Белоусов, С. А. Недоспасов // Молекулярная биология. – 2011. – Т 45, № 1. – С. 7–19.
37. Ершов Ф.И. Интерфероны и их индукторы / Ф. И. Ершов, О. И. Киселев – Москва : Гэотар-Медиа, 2005. – 356 с.
38. Железнякова Г. Ф. Цитокины в диагностике и прогнозе течения инфекций / Г. Ф. Железнякова // Нейроиммунология. – 2008. – Т. 6, № 3-4. – С. 9–17.
39. Зайцев А. А. Грипп: диагностика, лечение / А. А. Зайцев, А. И. Синопальников // РМЖ. – 2008. – № 16 (22). – С. 1494–1502.
40. Иванов В. В. Участие интерлейкина-8 в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций / В. В. Иванов, М. В. Шипилов // Росмедпортал. – 2011. – Т. 2. – Режим доступа до журн. :[http://www.rosmedportal.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1348:-8-&catid=25:the-project](http://www.rosmedportal.com/index.php?option=com_content&view=article&id=1348:-8-&catid=25:the-project)
41. Иванов И. И. Цитокины воспаления при гриппе А / И. И. Иванов, М. В. Шипилов // Ученые записки орловского государственного университета. – 2011. – № 5. – С. 25–33.
42. Ивашкин В. Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии / В. Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2008. – Т 18, № 4. – С. 4–13.
43. Иммунология: Терминологический словарь / [авт.-уклад. Титов Л. П.]. – М. : Беларуская навука, 2004. – 351 с.



44. Информационная сводка ВОЗ оценка риска: Инфицирование людей вирусом гриппа А(Н7N9), 21 января 2014 г. ВОЗ. ЕРБ. – 2013. – Режим доступа: <http://www.euro.who.int/ru/health-topics/communicable-diseases/influenza/publications/2013/who-risk-assessment-human-infections-with-avian-influenza-ah7n9-virus,-21-january-2014>.
45. Караулов А. В. Современные подходы к вакцинопрофилактике гриппа / А. В. Караулов, И. В. Евсегнеева // Вакцинация. – 2011. – № 1. – С. 43–52.
46. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – Москва : Фолиант, 2008. – 552с.
47. Киселев О.И. Фундаментальные направления молекулярной медицины. Индукция интерферонов: новые подходы к созданию функциональных индукторов / О. И. Киселев, Б. И. Ткаченко, Ф. И. Ершов. – Санкт-Петербург : Росток, 2005. – 400 с.
48. Клинические особенности внебольничной пневмонии у больных гриппом А / Н1N1 / А. В. Говорин, О. М. Серебрякова, А. П. Филев [и др.] // Пульмонология. – 2010. – № 5. – С. 27–29.
49. Кострюкова Е. С. Генетический анализ вируса гриппа А / Н1N1 "пандемический" в условиях эпидемии / Е. С. Кострюкова, Н. Б. Захаржевская, П. А. Костин [и др.] // Пульмонология. – 2011. – № 5. – С. 5–11.
50. Лебедев К. А. Иммунология образраспознающих рецепторов / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина. – Москва : Либроком, 2008. – 253 с.
51. Лобзин Ю.В. Воздушно-капельные инфекции / Ю. В. Лобзин, В. П. Лихопоев, Н. И. Львов. – Санкт-Петербург : ИКФ Фолиант, 2000. – 184 с.
52. Малежик Л. П. Влияние полиморфизма рецепторов Toll-4 (Asp299Gly) и Toll-6 (Ser249Pro) на продукцию цитокинов у детей, часто болеющих острыми респираторными вирусными инфекциями / Л. П. Малежик, Н. И. Карпов // Забайкальский медицинский журнал. – 2012. – С. 37–38.

53. Малый В.П. Грипп: пособие для врачей / В. П. Малый, М. Г. Романцов, Т. В. Сологуб. – Санкт-Петербург — Харьков, 2007. – 84 с.
54. Медик В. А. Общественное здоровье и здравоохранение. Руководство к практическим занятиям. / В. А. Медик, В. И. Лисицин, М.С. Токмачев : – Москва. ГЕОТАР-Медиа, 2012. 392с.
55. Міністерство охорони здоров'я України / Інформація щодо захворюваності на грип та гострі респіраторні захворювання та їх ускладнення (пневмонії тощо) за період з 22 по 28 березня (12-й тиждень) 2010. – Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua/ua/main/press/?docID=15184>.
56. Наказ МОЗ України від 19.03.2007 р. № 128 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія». – Режим доступу: – [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20070319\\_128.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20070319_128.html)).
57. Наказ МОЗ України № 813 від 07.11.09. «Про затвердження Алгоритму надання медичної допомоги хворим на пандемічний грип, викликаний вірусом А Н1/Н1 Каліфорнія». – Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20091111\\_813.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20091111_813.html).
58. Наказ МОЗ України № 499 від 16.07.2014 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при грипі та гострих респіраторних інфекціях». – Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20140716\\_0499.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20140716_0499.html)
59. Наказ МОЗ України від 13.11.2009 № 832 «Про внесення змін до наказу МОЗ від 20.05.2009 №189-Адм «Про затвердження Протоколу діагностики та лікування нового грипу А Н1/Н1 Каліфорнія у дорослих». – Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20091113\\_832.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20091113_832.html).
60. Опосредованные через Toll-подобные рецепторы выработка цитокинов и экспрессия поверхностных маркеров лейкоцитами человека /

- Л. В. Ковальчук, М. В. Хореева, А. С. Варивода [и др.] // Иммунология. – 2008. – № 4. – С. 223–227.
61. Особенности течения гриппозной пневмонии в современных условиях / Д. С. Михалик, Л. И. Николаенкова, Г. В. Жуков [и др.] // Земский Врач. – 2011. – № 3 (7). – С. 29–33.
62. Особенности клинического течения пневмоний, осложняющих грипп А/Н1N1 / А. И. Салоникиди, И. А. Зайцев, Е. А. Чебакина [и др.] // Сучасні інфекції. – 2010. – № 1. – С. 30–34.
63. Особенности клинической картины пневмоний на фоне гриппа А/Н1N1 : материалы Всерос. науч.-практ. конф. [«Итоги эпидемии гриппа А Н1N1»], (Чита, 2010 г.) / А. П. Филеев, О.М. Серебряков, Е.Н. Романова [и др.] // Ч : ЧГМА, 2010. – С. 96–98.
64. Пак С. Г. Инфекционные болезни: взгляд через призму времени / С. Г. Пак. – М. : ГОУВПО ММА им. И.М. Сеченова, 2005. – 44 с.
65. Патогенез острых респираторных вирусных инфекций и гриппа / И. В. Сергеева, Н. И. Камзалакова, Е. П. Тихонова [и др.] // Практическая медицина. – 2012. – № 6 (61). – С. 47–50.
66. Пересада О. А. Современные подходы к лечению гриппа и пневмонии у беременных / О. А. Пересада, А. Н. Барсуков // Медицинские новости. – 2011. – № 2. – С. 19–26.
67. Перцева Т. А. Внегоспитальная пневмония у беременных в условиях эпидемии гриппа / Т. А. Перцева, В. В. Дмитриченко // Український пульмонологічний журнал. – 2011. – № 4. – С. 44–48.
68. Петров Р. В. Вакцинация против гриппа: проблемы и успехи / Р. В. Петров // Лечащий врач. – 2007. – № 9. – С. 93–96.
69. Подходы к оценке рецепторов врожденного иммунитета / Л. В. Ковальчук, М. В. Хореева, А. С. Варивода [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Т. 2(11), № 2–3. – С. 151.
70. Полиморфизм Asp299Gly гена TLR4 и тяжелое течение atopической бронхиальной астмы у детей / Ю. А. Вовк, О. Я. Ткаченко,

- О. В. Измайлова [и др.] // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2013. – № 2. – С. 98–99.
71. Попов Н. Н. Грипп (антропонозный, птичий, свиной). Клиника, лечение та профилактика : методичні рекомендації / Н. Н. Попов, О. В. Волобуєва, Т. І. Лядова. – Харків, 2009. – 40 с.
72. Природжені компоненти імунітету: TOLL-подібні рецептори в нормі і при патології / Т. О. Крючко, О. Я. Ткаченко, Н. Л. Куценко [та ін.] // Здоровье ребенка. – 2010. – Т. 6, № 27. – С. 42–45.
73. Пузырев В. П. Генетическое разнообразие населения и болезни человека / В. П. Пузырев, М. Б. Фрейдин, А. Н. Кучер. – Томск : Печатная мануфактура, 2007. – 320 с.
74. Рекалова Е. М. Поражения легких в период пандемии свиного гриппа А(Н1N1) 2009-2010 гг. / Е. М. Рекалова // Здоровье Украины. – 2010. – № 3. – С. 42–48.
75. Рыбакина Е. Г. Трансдукция сигнала интерлейкина-1 в процессах взаимодействия нервной и иммунной систем организма / Е. Г. Рыбакина, Е. А. Корнева // Вестник Российской академии наук. – 2005. – № 7. – С. 3–8.
76. Роль поліморфізму Toll-подібного рецептора 4 Asp299Gly у розвитку інфекцій, що передаються статевим шляхом / О.В. Измайлова, О.А. Шликова, Н.О. Боброва [та ін.] // Проблеми екології та медицини. – 2009. – Т.13, №5–6. – С. 3–6.
77. Ротанов М. Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вируса гриппа А, характеризующихся различной чувствительностью к римантадину, на основе нуклеотидной последовательности М2 белка / М. Ротанов, Т.В. Гребенникова, Е.И. Бурцева [и др.] // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2007. – Т. 9, № 4. – С. 369–374.
78. Сезонний грип: ключові аспекти клінічного ведення тяжких форм хвороби. WHO Regional office for Europe – 2011. – Режим доступу:

[http://www.euro.who.int/data/assets/pdf\\_file/0007/154888/flu\\_case\\_management\\_rus.pdf](http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0007/154888/flu_case_management_rus.pdf).

79. Синдром системного воспалительного ответа при тяжелых формах гриппозной инфекции : матер. XV национального конгресса [«Человек и лекарство»], (Москва 14-18 апреля, 2008 г.) Российская академия государственной службы при Президенте РФ - М. : Рос. Акад. Мед. наук., 2008. – С. 19.
80. Симбирцев А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – №1. – С. 9–17.
81. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – № 3(2). – С. 16–21.
82. Смелая Т. В. Генетическая предрасположенность, патоморфоз, лечение внебольничной и нозокомиальной пневмонии : автореф. дисс. на соискание уч. степени докт. мед. наук : спец. 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология» / Т. В. Смелая. – Москва, 2011. – 54 с.
83. Таточенко В. К. О вакцинации против гриппа / В. К. Таточенко // Лечащий врач. – 2001. – № 8. – С. 20–25.
84. Титов Л. П. Антигенный гомеостаз и аутоиммунные заболевания / Л. П. Титов // Вестн НАН Беларус. Сер. мед. биял. навук. – 2003. – №1. – С. 89–103.
85. Титов Л. П. Противовирусный иммунитет: молекулярно-клеточные механизмы, закономерности развития и иммунопатологии / Л. П. Титов, И. А. Карпов // Белорусский медицинский журнал. – 2008. – № 3. – С. 28–35.
86. Титов Л. П. Введение в иммунологию. Молекулы иммунной системы / Л. П. Титов // Медицина. – 1998. – № 4. – С. 32–35.
87. Толстопятов М. А. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей /

- А. М. Толстопятов, Г. А. Буслаев, И. Г. Козлов // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 1. – С. 115–120.
88. Шипилов М. В. Острые респираторные вирусные инфекции и интерлейкин-6 / М. В. Шипилов, В. В. Иванов // 2012. – Режим доступа до журн. : <http://sibac.info/2009-07-01-10-21-16/50-2011-12-21-06-47-18/2011-12-21-06-47-43/764--6>
89. Шойхет Я. Н., Клестер Е. Б., Бахарева И. В. Частота встречаемости пневмоний, возникших как осложнение у больных ОРВИ и сезонным гриппом и у больных гриппом А/Н1N1, в Алтайском крае : материалы XX национального Конгресса по болезням органов дыхания [под ред. А. Г. Чучалина]. – М. : ДизайнПресс, 2010. – С. 256–257.
90. A Canadian Critical Care Trials Group project in collaboration with the international forum for acute care trialists - Collaborative H1N1 Adjuvant Treatment pilot trial (CHAT): study protocol and design of a randomized controlled trial / 2011. // <http://link.springer.com/article/10.1186/1745-6215-12-70/fulltext.html>.
91. Activation of Airway Epithelial Cells by Toll-Like Receptor Agonists/ Q. Sha, Ai Q. Truong-Tran, J. R. Plitt [et al.] // J. Am. Respir. Cell Mol. Biol. – 2004. – Vol. 31. – P. 358–364.
92. Acquisition of murine NK cell cytotoxicity requires the translation of a pre-existing pool of granzyme B and perforin mRNAs / T. A. Fehniger, S. F. Cai, X. Cao // 2007. – Immunity. – Vol. 26. – P. 798–811.
93. A common polymorphism in TLR3 confers natural resistance to HIV-1 infection / M. Sironi, M. Biasin, R. Cagliani [et al] // J Immunol. – 2012. – Vol. 15, № 188(2). – P. 818–823.
94. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition / V. Ranieri, G. D. Rubenfeld, B. Thompson [et al.] // JAMA. – 2012. – Vol. 307, № 23. – P. 2526–2533.

95. Acute Respiratory Illness in Patients With COPD and the Effectiveness of Influenza Vaccination / P. Wongsurakiat, K. N. Maranetra, C. Wasi // CHEST. – 2004. – Vol. 125, № 6. – P. 2011–2020.
96. A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll / F. L. Rock, G. Hardiman, J. C. Timans [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1998. – Vol. 95. – P. 588–593.
97. Age-associated decrease in TLR function in primary human dendritic cells predicts influenza vaccine response / A. Panda, F. Qian, S. Mohanty [et al.] // J Immunol. – 2010. – Vol. 184. – P. 2518–27.
98. A missense mutation of the Toll-like receptor 3 gene in a patient with influenza-associated encephalopathy / F. Hidaka, S. Matsuo, T. Muta [et al.] // Clin Immunol. – 2006. – Vol. 119, № 2. – P. 188–194.
99. 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.] // Infect. Immun. – 2000. – Vol. 68. P. 6398–6401.
100. Antivirals for treatment of influenza: a systematic review and metaanalysis of observational studies / J. Hsu, N. Santesso, R. Mustafa [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2012. – Vol. 156, № 7. – P. 512–524.
101. Ank N. IFN-I: novel antiviral cytokines / N. Ank, H. West, S. R. Paludan // J. Interferon. Cytokine Res. – 2006. – Vol. 26. – P. 373–379.
102. 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.] // J. Biol Chem. – 2010. – Vol. 285, № 30. – P. 23208–23223.
103. Associations between SNPs in toll-like receptors and related intracellular signaling molecules and immune responses to measles vaccine: preliminary results / N. Dhiman, I. G. Ovsyannikova, R. A. Vierkant [et al.] // Vaccine. – 2008. – Vol. 26. – P. 1731–1736.

104. Association of toll-like receptor 3 gene polymorphism with subacute sclerosing panencephalitis / Y. Ishizaki, M. Takemoto, R. Kira [et al.] // *J. Neurovirol.* – 2008. – Vol. 14, № 6. – P. 486–491.
105. Association between toll-like receptor polymorphisms and the outcome of liver transplantation for chronic hepatitis C virus / A. J. Eid, R. A. Brown, C. V. Paya [et al.] // *Transplantation.* – 2007. – Vol. 84, № 4. – P. 511.
106. Association between common TLR 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease / T. G. Mandelberg, A. Dalai, I. Cesar [et. al.] // *J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 189, № 11. – P. 2057–2063.
107. A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria / D. Zhang, G. Zhang, M. S. Hayden [et al.] // *Science.* – 2004. – Vol. 303. – P. 1522–1526.
108. Avian influenza A (H5N1) infection in humans / J. H. Beigel, J. Farrar, A. M. Han [et al.] // *J. N Engl Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 1374–85.
109. Bacterial Pneumonia During the Hong Kong Influenza Epidemic of 1968-1969 / S. W. Schwarzmann, J. L. Adler, RJ Jr Sullivan [et al.] // *Arch Intern Med.* – 1971. – Vol. 127, № 6. –P. 1037–1041
110. Barton G. M. Viral recognition by Toll-like receptors / G. M. Barton // *Semin Immunol.* – 2007. – Vol. 19, № 1. – P. 33–40.
111. Basu S. Fenton M. J. Toll-like receptors: function and roles in lung disease / S. Basu // *J. Am. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – Vol. 286. – P. 887–892.
112. Bench-to-bedside review: Bacterial pneumonia with influenza - pathogenesis and clinical implications / K. F van der Sluijs, T. van der Poll, R. Lutter [et al.] // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 14, № 2. – P. 219–226.
113. Beutler B. Microbe sensing, positive feedback loops, and the pathogenesis of inflammatory diseases / B. Beutler // *Immunol. Rev.* – 2009. – Vol. 227, № 1. – P. 148–263.



114. Boehme K. W. Innate sensing of viruses by toll-like receptors / K. W. Boehme, T. Compton // *J Virol.* – 2004. – Vol. 78, № 15. – P. 7867–7873.
115. Brown R. A. A Real-Time PCR Assay for the Simultaneous Detection of Functional N284I and L412F Polymorphisms in the Human Toll-like Receptor 3 Gene / R. A. Brown, R. R. Razonable // *J. Mol. Diagn.* – 2010. – Vol. 12, № 4. – P. 493–497.
116. Brundage J. F. Deaths from bacterial pneumonia during the 1918-19 influenza pandemic / J. F. Brundage, G. D. Shanks // *Emerg. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1193–1199.
117. Candida-specific INF-gamma deficiency and toll-like receptor polymorphisms in patients with chronic mucocutaneous candidiasis / C. A. Van der Graa, M. G. Netea, S. A. Morre [et al.] // *J. Eur. Cytokine Netw.* – 2006. – Vol. 17, №1. – P. 29.
118. Cario E. Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2 / E. Cario // *Get.* – 2005. – Vol. 54. – P. 1182–1193.
119. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Bacterial coinfections in lung tissue specimens from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) – United States, May-August 2009 // *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* – 2009. – Vol. 58. – P. 1071–1074.
120. Centers for Disease and Prevention (CDC). Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine // *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* – 2009. – 58. – P. 521–524.
121. Chang S. Toll-like receptors 1 and 6 are involved in TLR2-mediated macrophage activation by hepatitis C virus core and NS3 proteins / S. Chang, A. Dolganiuc, G. J. Szabo // *Leukoc Biol.* – 2007. – Vol. 82, № 3. – P. 479.
122. Characterization and investigation of single nucleotide polymorphisms and a novel TLR2 mutation in the human TLR2 gene / S. Merx, M. Neumaier,

- H. Wagner [et al.] // *Humanum. Molecular. Genetics.* – 2007. – Vol. 16, № 10. – P. 1225–1232.
123. Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection / N. Hagau, A. Slavcovic, D. N. Gonganau [et al.] // *Crit. Care.* – 2010. – Vol. 14, № 6. – P. 203.
124. Colonna M. TLR pathways and IFN-regulatory factors: to each its own / M. Colonna // *Eur. J. Immunol.* – 2007. – Vol. 37, № 2. – P. 306–309.
125. Collaborative ftCCCTGHN Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) infection in Canada / A. Kumar, R. Zarychanski, R. Pinto // *JAMA.* – 2009. – Vol. 302. – P. 1872– 1879.
126. Community-Acquired Pneumonia Due to Pandemic A(H1N1) 2009 Influenzavirus and Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Co-Infection / R. J. Murray, J. O. Robinson, J. N. White [et. al.] // *PLoS ONE.* – 2010.– Vol. 5, № 1. P. 1–9.
127. Critically ill patients with influenza A (novel H1N1) in Mexico / G. Dominguez-Cherit, S. Lapinsky, L. Espinosa-Perez [et al.] // *JAMA.* – 2009. – Vol. 302. – P. 1880–1887.
128. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) in Mexico / G. Domin, S. Lapinsky, A. Macias [et al.] // *JAMA.* – Vol. 302. – P. 1880–1887.
129. 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.] // *The Journal of Immunology.* – 2007. – Vol. 178, № 6. P. 3368–3372.
130. Cutting edge: TLR2-mediated proinflammatory cytokine and chemokine production by microglial cells in response to herpes simplex virus / R. N. Aravalli, S. Hu, T. N. Rowen, [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, № 7. – P. 4189–4193.
131. Dai X. X. Host cellular signaling induced by influenza virus / X. X. Dai, L. S. Zhang, T. Hong // *Sci China Life Sci.* – 2011. – Vol. 54. – P. 68–74.

132. Daniel B. Type I Interferons in Host Defense / B. Daniel, R. Medzhitov // *Immunity*. – 2006. – Vol. 25. – P. 373–381.
133. Defective response to Toll-like receptor 3 and 4 ligands by activated monocytes in chronic hepatitis C virus infection / M. C. Villacres, O. Literat, M. DeGiacomo [et al.] // *J. Viral Hepatol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 137–144.
134. Dunlevy F. TLR3 Sensing of Viral Infection / F. Dunlevy, N. G. McElvaney, C. M. Greene // *Diseases Journal*. – 2010. – Vol. 4. – P. 1–10.
135. Didierlaurent A. Toll-like receptor ligands after resolution of respiratory influenza infection / A. Didierlaurent // *J Exp Med*. – 2008. – Vol. 205. – P. 323–329.
136. Different Patterns of Toll-Like Receptor 2 Polymorphisms in Populations of Various Ethnic and Geographic Origins / M. Ioana, B. Ferwerda, T. S. Plantinga [et al.] // *Infect. Immun.* – 2012. – Vol. 80, № 5. – P. 1917–1922.
137. Dunne A. Adaptor usage and Toll-like receptor signaling specificity / A. Dunne, L. A. O’Neill // *FEBS Lett.* – 2005. – Vol. 579, № 15. – P. 3330–3335.
138. Dunning J. Impact of the 2009 influenza pandemic / J. Dunning, P. J. Openshaw // *Thorax*. – 2010. – Vol. 65. – P. 471 – 472.
139. Dysregulation of TLR3 impairs the innate immune response to West Nile virus in the elderly / K. F. Kong, K. Delroux, X. Wang [et al.] // *J Virol.* – 2008. – Vol. 82. – P. 7613–7623.
140. Effects of Single Nucleotide Polymorphisms on Toll-like Receptor 3 Activity and Expression in Cultured Cells / C. T. Ranjith-Kumar, W. Miller, J. Sun Jin Xiong [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282, № 24. – P. 17696–17705.
141. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans / F. S. Dawood, S. Jain, L. Finelli [et al.] // *N Engl J Med*. – 2009. – Vol. 360. – P. 2605–2615.

142. Endotoxin Contamination in Commercially Available Pokeweed Mitogen Contributes to the Activation of Murine Macrophages and Human Dendritic Cell Maturation / J. S. Yang, H. J. Kim, Y. H. Ryu [et al.] // *CVI*. – 2006. – Vol. 13. – P. 309–313.
143. Epstein-Barr virus induces MCP-1 secretion by human monocytes via TLR2 / E. Gaudreault, S. Fiola, M. Olivier [et al.] // *J Virol*. – 2007. – Vol. 81, 15. – P. 8016–8024.
144. European Respiratory Society; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2005) Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections / M. Woodhead, F. Blasi, S. Ewig [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2011. – Vol. 2, №6. – P. 1138–1180.
145. Evolutionary dynamics of human Toll-like receptors and their different contributions to host defense / L. B. Barreiro, M. Ben-Ali, H. Quach [et al.] // *PLoS Genet.* – 2009. – 5: e1000562.
146. Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia / M. D. de Jong, C. P. Simmons, T. T. Thanh [et al.] // *Nat Med.* – 2006. – Vol. 12. – P. 1203–1207.
147. Fedson D. S. Confronting the next influenza pandemic with anti-inflammatory and immunomodulatory agents: why they are needed and how they might work / D. S. Fedson // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2009. – Vol. 3, № 4. – P. 129–142.
148. Flu virus appears worse in patients with mixed immune activation / C. R. Li, J. Yang, S. L. Jia [et al.] // *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. – 2010. – Vol. 48, № 12. – P. 947–53.
149. Functional evolution of the TICAM-1 pathway for extrinsic RNA sensing / T. Seya, M. Matsumoto, T. Ebihara [et al.] // *Immunol Rev.* – 2009. – Vol. 227. – P. 44.
150. García-Sastre A. Influenza pathogenesis / A. García-Sastre // *Emerging Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 12, №. 1. – [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid).

151. Geddes A. M. Influenza and bacterial pneumonia International / A. M. Geddes // *Journal of Antimicrobial Agents* 34. – 2009. – P. 293–294.
152. Genetic polymorphisms of viral infection-associated Toll-like receptors in Chinese population / P. L. Cheng, H. L. Eng, M. H. Chou [et al.] // *Transl. Res.* – 2007. – Vol. 150. – P. 311–318.
153. Genetic polymorphism of CD14, tlr4 and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants / B. Szelenyi, R. Szekeres, K. Rusai [et al.] // *Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2006. – Vol. 42, № 1. – P. 27–31.
154. Georgel P. The heterogeneous allelic repertoire of human Toll-like receptor (TLR) genes / P. Georgel, C. Macquin, S. Bahram // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4. – P. 7803.
155. Glezen W. P. Asthma, influenza, and vaccination / W. P. Glezen // *J Allergy Clin Immunol.* – 2006. – Vol. 118. – P. 1199–1206.
156. Health Protection Agency guidance on use of antiviral agents for the treatment and prophylaxis of influenza, 12 December 2011. <http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1191942171479>.
157. Hengel H. Viruses know it all: new insights into IFN networks / H. Hengel, U. H. Koszinowski, K. K. Conzelmann // *Trends. Immunol.* – 2005. – Vol. 26, № 7. P. 396–401.
158. Hepatitis C core and nonstructural 3 proteins trigger toll-like receptor 2-mediated pathways and inflammatory activation / A. Dolganiuc, S. Oak, K. Kodys [et al.] // *Gastroenterology.* – 2004. – Vol. 127, № 5. – P. 1513.
159. Heterozygous Arg753Gln polymorphism of human TLR-2 impairs immune activation by *Borrelia burgdorferi* and protects from late stage Lyme disease / N. W. Schroder, I. Diterich, A. Zinke [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175. – P. 2534–2540.
160. Hoffjan S. Present status on the genetic studies of asthma / S. Hoffjan, C. Ober // *Curr. Opin. Immunol.* – 2007. – Vol. 14, № 6. – P. 709–717.

161. Holmes C. L. Genetic Polymorphisms in Sepsis and Septic Shock: Role in Prognosis and Potential for Therapy Free To View / C. L. Holmes, J. A. Russell [et al.] // J. CHEST. – 2003. – Vol. 124, № 3. – P. 1103–1115.
162. Homozygosity for the toll-like receptor 2 R753Q single-nucleotide polymorphism is a risk factor for cytomegalovirus disease after liver transplantation / S. H. Kang, R. C. Abdel-Massih, R. A. Brown [et al.] // J. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 205. – P. 639–646.
163. Hospitalized patients with novel influenza A (H1N1) virus infection—California, April–May, 2009 / F. S. Dawood, S. Jain, L. Finelli // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. – 2009. – Vol. 58. – P. 536–541.
164. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms associated with an increased risk of gram-negative infections / D. M. Agnese, J. E. Calvano, S. J. Hahm [et al.] // J. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 186. – P. 1522–1525.
165. Human toll-like receptors 4 mutations are associated with susceptibility to invasive meningococcal disease in infancy / J. Faber, C. U. Meyer, C. Gemmer [et al.] // J. Pediatr. Infect. – 2006. – Vol. 25, № 1. – P. 80–81.
166. Human TLR3 recognizes dengue virus and modulates viral replication in vitro / Y. T. Tsai, S. Y. Chang, C. N Lee [et al.] // Cell Microbiol. – 2009. Vol. 11. – P. 604–615.
167. Identification of the Cellular Sensor That Stimulates the Inflammatory Response to Sterile Cell Death / H. Kono, D. Karmarkar, Y. Iwakura [et al.] // J. Immunol. – 2010. – Vol. 184, № 8. – P. 4470–4478.
168. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury / Y. Imai, K. Kuba, G. G. Neely [et al.] // Cell. – 2008. – Vol. 133. – P. 235–249.
169. IL-28 Elicits Antitumor Responses against Murine Fibrosarcoma / M. Numasaki, M. Tagawa, F. Iwata [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, № 8. – P. 5086–5098.

170. Immune dysregulation in severe influenza / M. L. Heltzer, S. E. Coffin, K. Maurer [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2009. – Vol. 85, № 6. – P. 1036–1043.
171. Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract complications and hospitalizations / L. Kaiser, C. Wat, T. Mills [et al.] // *Arch Intern Med*. – 2003. – Vol. 163. – P. 1667 – 1672.
172. Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza a virus / L. Guillot, R. Le Goffic, S. Bloch [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2005. – Vol. 280. – P. 5571 –5580.
173. Influenza-related pneumonia / M. H. Almond, D. F. McAuley, M. P. Wise [et al.] // *Clin. Med*. – 2012. – Vol. 1, № 1. – P. 67–70.
174. Influenza and COPD mortality protection as pleiotropic, dose-dependent effects of statins / F. J. Frost, H. Petersen, K. Tollestrup [et al.] // *Chest*. – 2007. – Vol. 131, № 4. – P. 1006–1012.
175. Influenza B virus ribonucleoprotein is a potent activator of the antiviral kinase PKR / B. Dauber, L. Martinez-Sobrido, J. Schneider [et al.] // *PLoS Pathog*. – 2009. – Vol. 5: e1000473.
176. Influenza A virus facilitates *Streptococcus pneumoniae* transmission and disease / D. A. Diavatopoulos, K. R. Short, J. T. Price [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2010. –Vol. 24. – P. 1789–1798.
177. Influenza A virus strains differ in sensitivity to the antiviral action of Mx-GTPase / J. Dittmann, S. Stertz, D. Grimm [et al.] // *J Virol*. – 2008. – Vol. 82. – P. 3624–3631.
178. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis* / J. Kleinnijenhuis, M. Oosting, L. A. Joosten [et al.] // *Clin. Dev. Immunol*. – 2011. –Vol. 2011. – P. 405–410.
179. 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 // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6, № 12.

180. IFN- $\alpha$  regulates TLR-dependent gene expression of IFN- $\alpha$ , INF- $\beta$ , IL-28, and IL-29 / J. Siren, J. Pirhonen, I. Julkunen [et al] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174. – P. 1932–1937.
181. Jones C. Hemispherx Biopharma Announces New Publication Enlarges the Understanding of Ampligen (R) Safety Profile Across Diverse Animal Species and Focuses on the Unique TLR-3 Receptor/Ampligen (R) Interaction / C. Jones // *American Journal of Pathology.* – 2014. – Vol. 184. – P. 1062–1072.
182. Kanto T. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection: multifaceted strategies subverting innate and adaptive immunity / T. Kanto, N. Hayashi // *Intern Med.* – 2006. – Vol. 45, № 4. – P. 183.
183. Kawai T. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors / T. Kawai, S. Akira // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11, № 5. – P. 373–384.
184. Kawai T. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition / T. Kawai // *Internat. Immunol.* – 2009. – Vol. 21, № 4. – P. 317–337.
185. Kawai T. Innate immune recognition of viral infection / T. Kawai, S. Akira // *Nat. Immunol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 131–137.
186. Kido H. Mechanisms of multi-organ failure in severe influenza / H. Kido, M. Yao, S. Wang // *Nippon Rinsho.* – 2010. – Vol. 68, № 8. – P. 1565–1573.
187. Kumar H. Toll-like receptors and innate immunity / H. Kumar, T. Kawai, S. Akira // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2009. – Vol. 338, № 4. – P. 621–625.
188. Ku C. L. Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity / C. L. Ku // *J. Exp. Med.* – 2007. – P. 2407–2422.
189. Kyung-Hyun Boo. Intrinsic Cellular Defenses against Virus Infection by Antiviral Type I Interferon / Kyung-Hyun Boo, Joo-Sung Yang // *J. Med. Yonsei.* – 2010. – Vol. 51, № 1. – P. 9–17.



190. Lack of Toll-like receptor 4 and 2 polymorphisms in Korean patients with bacteremia / H. J. Yoon, J. Y. Choi, C. O. Kim [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* – 2006. – Vol. 21, № 6. – P. 979–982.
191. Lee N LS. Role of cytokines and chemokines in severe and complicated influenza infections / N LS Lee // *Hong Kong Med J.* – 2009. – Vol 15, № 8. – P. 38–41.
192. Lundberg A. Lipopolysaccharide-Induced Responses in Relation to the TLR4 (Asp299Gly) Gene Polymorphism / A. Lundberg, L. Wikberg, J. Lonen // *Clinical and vaccine immunology.* – 2008. – Vol. 5. – P. 1878–1883.
193. Majewska M. Rola receptor y w toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej (The role of toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation) / M. Majewska, M. Szczepanik // *Postepy Hig. Med. Dosw.* – 2006. – Vol. 60. – P. 52–63.
194. Mamas M. A. Cardiovascular manifestations associated with influenza virus infection / M. A. Mamas, D. Fraser, L. Neyses // *Int J Cardiol.* – 2008. – Vol. 130. – P. 304–309.
195. Morens D. M. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness / D. M. Morens, J. K. Taubenberger, A. S. Fauci // *J Infect Dis.* – 2008. – Vol. 198. – P. 962–970.
196. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (2009) Use of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) / *MMWR Recomm Rep.* – 2009. – Vol. 58. – P. 1–8.
197. Netea M. G. Genetic variation in Toll-like receptors and disease susceptibility / M. G. Netea, C. Wijmenga, L. A. J. O'Neill // *Nature immunology.* – 2012. – Vol. 13, № 6. – P. 535–542.

198. New vaccines against influenza virus / Young-Tae Lee, Ki-Hye Kim, Eun-Ju Ko [et al.] // *Clin Exp Vaccine Res.* – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 12–28.
199. Noreen M. TLR4 polymorphisms and disease susceptibility / M. Noreen, Muhammad Ali A. Shah, S. M. Mall // *Inflammation Research.* – 2012. – Vol. 61, № 3. – P. 177–188.
200. New class of monoclonal antibodies against severe influenza: prophylactic and therapeutic efficacy in ferrets / R. H. Friesen, W. Koudstaal, M. H. Koldijk [et al.] // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5. – P. 9106.
201. O’Neill L. A. The Toll-IL-1 receptor family grows to file members // L. A. O’Neill, K. A. Fitzgerald, A. G. Bowie // *Trends in Immunol.* – 2003. – Vol. 24, № 6. – P. 287–290.
202. Pandemic H1N1 2009 influenza: clinical management guidelines for adults and children. – 2009. [www.dh.gov.uk/en/Publichealth/Flu/Swinefluguidance/DH\\_122629](http://www.dh.gov.uk/en/Publichealth/Flu/Swinefluguidance/DH_122629).
203. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution / L. Simonsen, M. J. Clarke, L. B. Schonberger // *J Infect Dis.* – 1998. – Vol. 178. – P. 53–60.
204. Peebles R. S. Jr. Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection in the murine model / R. S. Jr. Peebles, B. S. Graham // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2005. – Vol. 2, № 2. – P. 110–115.
205. 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.] // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 680–689.
206. Polymorphisms in TLR2 are associated with increased viral shedding and lesional rate in patients with genital herpes simplex virus Type 2 infection / P. Y. Bochud, A. S. Magaret, D. M. Koelle [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 196, № 4. – P. 505–509.
207. Potent immunogenicity and efficacy of a universal influenza vaccine candidate comprising a recombinant fusion protein linking influenza M2e

- to the TLR5 ligand flagellin / J. W. Huleatt, V. Nakaar, P. Desai [et al.] // *Vaccine*. – 2008. – Vol. 26. – P. 201–214.
208. Pre- and postexposure use of human monoclonal antibody against H5N1 and H1N1 influenza virus in mice: viable alternative to oseltamivir / W. Koudstaal, M. H. Koldijk, J. P. Brakenhoff [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 200. – P. 1870–1873.
209. 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.] // *J. Eur. Cytokine Netw.* – 2007. – Vol. 18, № 3. – P. 162–167.
210. Protective role of beta interferon in host defense against influenza A virus / I. Koerner, G. Kochs, U. Kalinke [et al.] // *J. Virol.* – 2007. – Vol. 81. – P. 2025–2030.
211. Proinflammatory adjuvants enhance the cognate helper activity of aged CD4 T Cells / A. C. Maue, S. M. Eaton, P. A. Lanthier [et al.] // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 182. – P. 6129–6135.
212. Rallabhandi P. Analysis of TLR4 polymorphic variants: new into TLR4/MD-2/CD14 stoichiometry, structure, and signaling / P. Rallabhandi, J. Bell, M.S. Boukhvalova // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 322–332.
213. Regulation of Interferon-Stimulated Genes in Peripheral Blood Leukocytes in Pregnant and Bred, Nonpregnant Dairy Cows / C. A. Gifford, K. Racicot, D. S. Clark [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2007. – Vol. 90. – P. 274–280.
214. Rello J. Clinical review: Primary influenza viral pneumonia / J. Rello, A. Pop-Vicas // *Critical Care*. – 2009. – Vol. 13, № 235 <http://ccforum.com/content/13/6/235>.
215. Respiratory syncytial virus activates innate immunity through toll-like receptor 2 / M. R. Murawski, G. N. Bowen, A. M. Cerny [et al.] // *J. Virol.* – 2009. – Vol. 83. – P. 1492–1500.

216. Risk Factors for Severe Outcomes following 2009 Influenza A (H1N1) Infection: A Global Pooled Analysis / M. D. Van Kerkhove, K. AH Vandemaele, V. Shinde // *PLoS Med.* – 2011. Vol. 8, № 7. – <http://www.plosmedicine.org/article/info:doi/10.1371/journal.pmed.1001053>
217. R753Q Single Nucleotide Polymorphism Impairs Toll-like Receptor 2 Recognition of Hepatitis C Virus Core and Nonstructural 3 Proteins / A. R. Brown, J. H. Gralewski, A. J. Eid [et al.] // *Transplantation.* – 2010. – Vol. 89, № 7. – P. 811–815.
218. Role for TLR2 in NK cell-mediated control of murine cytomegalovirus in vivo / E. Szomolanyi-Tsuda, X. Liang, R.M. Welsh [et al.] // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80. – P. 4286–4291.
219. Roles of Specific Amino Acids in the N Terminus of *Pseudomonas aeruginosa* Flagellin and of Flagellin Glycosylation in the Innate Immune Response / A. Verma, S. K. Arora, S. K. Kuravi [et al.] // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73. – P. 8237–8246.
220. 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.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2010. – Vol. 285. – P. 23208–23223.
221. Rothberg M. B. Complications of Viral Influenza / M. B. Rothberg, S. D. Haessler, R. B. Brown // *The American Journal of Medicine.* – 2008. – Vol. 121. – P. 258–264.
222. Rothberg M. B. Complications of seasonal and pandemic influenza / M. B. Rothberg, S. D. Haessler // *Critical Care Medicine.* – 2010. – Vol. 38. – P. 91–97.
223. Schippers E. F. IL-10 and toll-like receptor-4 polymorphisms and the in vivo and ex vivo response to endotoxin / E. F. Schippers, van 't Veer C, van Voorden S. // *Cytokine.* – 2005. – Vol. 29. – P. 215–228.

224. Schmolke M. Evasion of Innate and Adaptive Immune Responses by Influenza A Virus / M. Schmolke, A. García-Sastre // *Cell Microbiol.* – 2010. – Vol. 12, № 7. – P. 873–880.
225. Schwartz D. A. Epigenetics and environmental lung disease / D. A. Schwartz // *Proc Am Thorac.* – 2010. – Vol. 7, № 2. – P. 123–125.
226. Seasonal Influenza in Adults and Children— Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America / S. A. Harper, J. S. Bradley, J. A. Englund [et al] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2009. – Vol. 48. – P. 1003–1032.
227. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 Influenza / G. Chowell, S. M. Bertozzi, M. A. Colchero [et al.] // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 674–679.
228. Statins and sepsis in patients with cardiovascular disease: a population-based cohort analysis / D. G. Hackam, M. Mamdani, P. Li [et al.] // *Lancet.* – 2006. – Vol. 367, № 9508. – P. 413–418.
229. Sustained desensitization to bacterial Toll-like receptor ligands after resolution of respiratory influenza infection / A. Didierlaurent, J. Goulding, S. Patel [et al.] // *J Exp Med.* – 2008. – Vol. 205, № 2. – P. 323–329.
230. Synthetic double-stranded RNA induces multiple genes related to inflammation through toll-like receptor 3 depending on NF-kB and/or IRF-3 in airway epithelial cells / S. Matsukura, F. Kokubu, M. Kurokawa [et al.] // *Clin Exp Allergy.* – 2006. – Vol. 36. – P. 1049–1062.
231. Szabo G. Subversion of plasmacytoid and myeloid dendritic cell functions in chronic HCV infection / G. Szabo, A. Dolganiuc // *Immunobiology.* – 2005. – Vol. 210 № 2–4. – P. 237.
232. Takeuchi O. Innate immunity to virus infection / O. Takeuchi, S. Akira // *Immunological Reviews.* – 2009. – Vol. 227. – P. 75–86.

233. The ANZIC Influenza Investigators: Critical Care Services and 2009 H1N1 Influenza in Australia and New Zealand / *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 1925–1934.
234. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease / A. C. Ogus, B. Yoldas, T. Ozdemir [et. al.] // *Eur. Respir. J.* – 2004. – Vol. 23. – P. 219–223.
235. The biological significance of TLR3 variant, L412F, in conferring susceptibility to cutaneous candidiasis, CMV and autoimmunity / A. Nahum, H. Dadi, A. Bates [et. al.] // *Autoimmunity Reviews.* – 2012. – Vol. 11, № 5. – P. 341–347.
236. The Importance of Toll-Like Receptor 2 Polymorphisms in Severe Infections / J. Texereau, J. D. Chiche, W. Taylor [et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2005. – Vol. 41. – P. 408–415.
237. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment score) to describe organ dysfunction / failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine / J. L. Vincent, R. Moreno, J. Takala [et. al.] // *Intensive Care Med.* – 1996. – Vol. 22. – P. 707–710
238. The TLR4 (TLR4 Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for gram-negative and haematogenous osteomyelitis / A. H. Montes, V. Asensi, V. Alvarez [et al.] // *J. Clin. Exp. Immunol.* – 2006. – Vol. 143, № 3. – P. 404–413.
239. The toll-like receptor 3:dsRNA signaling complex / I. Botos, L. Liu, Y. Wang [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1789, № 9-10. – P.667–674.
240. The Toll-like receptor 4 Asp299Gly functional variant is associated with decreased rheumatoid arthritis disease susceptibility but does not influence disease severity and/or outcome / T. R. Radstake, B. Franke, S. Hanssen [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 50. – P. 999.

241. Thiazolidines, a new class of anti-influenza molecules targeting viral hemagglutinin at the post-translational level / J.F. Rossignol, S. La Frazia, L. Chiappa [et al.] // *J. Biol Chem.* – 2009. – Vol. 284. – P. 29798–29808.
242. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza / J. F. Bermejo-Martin, R. Ortiz de Lejarazu, T. Pumarola [et al.] // *J. Crit. Care.* – 2009. – Vol. 13, № 6. – P. 201.
243. Thomas E. Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms: role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance / E. Thomas, S. E. Turvey // *Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 123. – P. 252–257.
244. Toll-like receptors in health and disease: complex questions remain/ I. Sabroe, R. C. Read, M. K. Whyte [et. al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 171. – P. 1630–1635.
245. Toll-like receptor 2 on inflammatory monocytes induces type I interferon in response to viral but not bacterial ligands / R. Barbalat, L. Lau, R. M. Locksley [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2009. – Vol. 10. – P. 1200–1207.
246. 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.] // *Virology*. – 2012. – Vol. 9. – P. 270.
247. Toll-like receptor 2 (TLR2) polymorphisms are associated with reversal reaction in leprosy / P. Y. Bochud, T. R. Hawn, M. R. Siddiqui [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 197, № 2. – P. 253–261.
248. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis / S. Kiechl, E. Lorenz, M. Reindl [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 347. – P. 185.
249. Toll-like receptor pre-stimulation protects mice against lethal infection with highly pathogenic influenza viruses / K. Shiny, T. Okamura, S. Sueta [et al] // *J. Virology.* – 2011. – Vol. 8, № 97. – P. 1–5.
250. Tsai Wan-Yu. Polymorphisms of Toll-like Receptor 3 (TLR3), TNF Receptor-associated Factor 6 (TRAF6), and Heme Oxygenase-1 (HO-1) are

Associated with Clinical Severity of Severe Acute Respiratory Syndrome / Tsai Wan-Yu, Ho Mei // 2005. –

<http://handle.ncl.edu.tw/11296/ndltd/87497652997228105336>

251. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans / N. C. Arbour, E. Lorenz, B. C. Schutte [et al.] // Nat. Genet. – 2000. – Vol. 25. – P. 187.
252. TLR4 polymorphisms, infectious diseases, and evolutionary pressure during migration of modern humans / B. Ferwerda, M. B. McCall, S. Alonso [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2007. – Vol. 104, № 42. – P. 16645–16650.
253. TLR-2 gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children / A. Berdeli, H. A. Celik, R. Ozyurek [et al.] // J. Mol. Med. – 2005. – Vol. 83. – P. 535–541.
254. TLR2 polymorphisms, Arg753Gln and Arg677Trp, are not associated with increased burden of tuberculosis in Indian patients / D Biswas, S. K. Gupta, G. Sindhvani [et al.] // BMC Res. Notes. – 2009. – Vol. 2. – P. 162.
255. TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis / S. Y. Zhang, E. Jouaguy, S. Ugolini [et al.] // Science. 2007. – Vol. 317. – P. 1522–1527.
256. Tumor Necrosis Factor Alpha Enhances Influenza A Virus-Induced Expression of Antiviral Cytokines by Activating RIG-I Gene Expression / S. Matikainen, J. Siren, J. Tissari [et al.] // J. Virol. – 2006. – Vol. 80, № 7. – P. 3515–3522.
257. T-705 (favipiravir) induces lethal mutagenesis in influenza A H1N1 viruses in vitro / T. Baranovich, S.S. Wong, J. Armstrong [et al.] // J Virol. – 2013. – Vol. 87. – P. 3741–3751.
258. Universal Influenza Vaccines – A / L. Wang, H. Zhang, R. W. Compans [et al.] // J. Immunol Clin Res. – 2013. – Vol. 1. – P. 1003.
259. Us D. Cytokine storm in avian influenza / D. Us // Mikrobiyol Bul. – 2008. – Vol. 42, № 2. – P. 365–380.
260. Validation of SMART-COP: a pneumonia severity assessment tool for predicting with patients will need intensive respiratory or inotropic support



- (IRIS) / P. G. P. Charles, M. J. Fine, J. A. Ramirez // 47<sup>th</sup> ICACC, Chicago. – 2007. – Abstr.: L1556a.
261. Viral infection switches non-plasmacytoid dendritic cells into high interferon producers / S. S. Diebold, M. Montoya, H. Unger [et al.] // *Nature*. – 2003. – Vol. 424. – P. 324–328.
262. Viral infections activate types I and III interferon genes through a common mechanism / K. Onoguchi, M. Yoneyama, A. Takemura // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 7576–7581.
263. Virus Infection Induces Efficient Adaptive Immunity Independently of Type I Interferons / C. B. Lopez, J. S. Yount, T. Hermesh [et al.] // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80. – P. 4538–4545.
264. Viral pneumonia / O. Ruuskanen, E. Lahti, L. C Jennings [et al.] // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – P. 1264 – 1275.
265. West J. Upregulation of the TLR3 pathway by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus during primary infection / J. West, B. Damania // *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82. – P. 5440–5449.
266. WHO: Influenza (H1N1) 2009 Key issues for case management. – 2011. – [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0007/132937/H1N1\\_Case-manag-summary-110120-RU-VVE-CORRECTED.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0007/132937/H1N1_Case-manag-summary-110120-RU-VVE-CORRECTED.pdf).
267. World Health Organization. – 2005. – № 33. – P. 277–288. [www.who.int/wer](http://www.who.int/wer).
268. Xagorari A. Toll-Like Receptors and Viruses: Induction of Innate Antiviral Immune Responses / A. Xagorari, K. Chlichlia // *Open Microbiol J.* – 2008. – Vol. 2. – P. 49–59.
269. Yang I.V. Epigenetic Control of Gene Expression Lung // I.V. Yang // *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 183. – P. 1295–1301.
270. Yu F.-S. X. Toll-like Receptors and the Eye / Yu F.-S. X., L. D. Hazlett // *IOVS*. – 2006. – Vol. 47. – P. 1255–1263.