

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ
РЕЦЕПТОРОВ (*TLR-2*, *TLR-4* И *TLR-6*) С ИНФЕКЦИЕЙ SARS COV-2 В
ЗАПАДНО-СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ**

Шевченко А. В. ¹,

Прокофьев В. Ф.¹,

Коненков В. И.¹,

Карасева А. А.²,

Афанасьева А. Д.²,

Логвиненко И. И.²

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Российская Федерация.

² Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, Российская Федерация.

**ASSOCIATION BETWEEN TOLL-LIKE RECEPTOR GENES
POLYMORPHISM (*TLR2*, *TLR4*, AND *TLR6*) AND SARS COV-2
INFECTION IN THE WEST SIBERIAN REGION OF RUSSIA**

Shevchenko A. V.^a,

Prokofiev V. F.^a,

Konenkov V. I.^a,

Karaseva A. A.^b

Afanaseva A. D.^b,

Logvinenko I. I.^b

^a Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (RICEL- Branch of IC&G SB RAS), Novosibirsk, Russian Federation.

^b Research Institute of Internal and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (IIPM - Branch of IC&G SB RAS), Novosibirsk, Russian Federation.

Резюме

Наличие предшествующего сердечно-сосудистого заболевания является важным фактором риска тяжелого клинического течения COVID-19. Кроме того, COVID-19 часто усугубляется сердечно-сосудистыми осложнениями. Взаимосвязь между COVID-19 и сердечно-сосудистой системой представляется весьма сложной и не изученной. При заражении SARS-CoV-2 активируется врожденный иммунный ответ через семейство толл-подобных рецепторов (TLR). С другой стороны, важна роль TLR в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Цель исследования – проведение комплексного сравнительного анализа полиморфизма генов толл-подобных рецепторов *TLR2* (rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810), у пациентов перенесших COVID-19 для выявления маркеров восприимчивости к развитию заболевания, тяжести течения и развитию сердечно-сосудистых осложнений. Обследовано 260 пациентов перенесших COVID-19 с разной степенью тяжести. Выделены группы с легкой, средней, тяжелой степенью протекания заболевания, группы с сердечно-сосудистыми проблемами в анамнезе и вновь выявленными после перенесенного заболевания. Однонуклеотидный полиморфизм *TLR2* (rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) анализировали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистическая обработка проводилась с использованием программного пакета SPSS 23.0. Анализ частот аллелей и генотипов рассчитывали с использованием двухстороннего точного критерия Фишера, в случаях множественных сравнений вводилась поправка Бонферрони. Выявлено увеличение частоты *TLR2 G* аллельного варианта и *GG* генотипа у пациентов, перенесших инфекционное заболевание относительно популяционной группы. Гетерозиготность в данной позиции значимо снижена в группе переболевших. Не выявлено различий частот генотипов между группами с разной степенью протекания заболевания. Однако при анализе комплексов показано снижение частоты *TLR2-753 ArgArg:TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr* у пациентов с объединенной средне - тяжелой

формой протекания заболевания относительно перенесших его в легкой форме. Пациенты с ССЗ при наличии TLR4-299 AspAsp и комплекса TLR4-299 AspAsp:TLR4-399ThrThr достоверно чаще переносили COVID-19 в более тяжелой форме. Комплексные маркеры TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr и TLR2-753 ArgArg:TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr ассоциированы с более легким протеканием инфекционного процесса. Выявлено шесть комплексов, частота которых значимо выше у пациентов с развитием сердечно-сосудистых осложнений после перенесенного COVID-19. Полученные данные подтверждают, что однонуклеотидный полиморфизм генов толл-подобных рецепторов влияет на развитие и клинический полиморфизм характера течения COVID-19. Наши исследования свидетельствуют о необходимости перехода от оценки значимости отдельных генетических вариантов к разработке полигенных показателей риска с учетом межгенных взаимодействий, которые лучше подходят для оценки риска и прогрессирования заболевания путем одновременного анализа нескольких генетических вариантов и учетом популяционных особенностей анализируемых групп.

Ключевые слова: COVID-19; гены толл-подобных рецепторов; TLR-2, TLR-4, TLR-6, молекулярный маркер; тяжесть течения.

Abstract

The presence of preceding cardiovascular disease (CVD) is an important risk factor for the severe clinical course of COVID-19. In addition, COVID-19 is often aggravated by cardiovascular complications. The relationship between COVID-19 and the cardiovascular system is very complex and has not been studied. When infected with SARS-CoV-2, the innate immune response is activated through the toll-like receptors (TLRs) family. And TLR role in the pathogenesis of cardiovascular diseases is important. The aim of the study was to conduct the comprehensive comparative analysis by assessing toll-like receptor TLR2 (rs5743708), TLR4 (rs4986790, rs4986791), TLR6 (rs5743810), TLR6 (rs5743810) gene polymorphism in COVID-19 convalescent patients to identify markers for disease susceptibility, severity of the course and development of cardiovascular complications. 260 patients with COVID-19 of varying severity degrees were examined. Groups with mild, moderate, and severe disease, groups with history of cardiovascular issues, and COVID-19 convalescent patients newly diagnosed with them were identified. Single nucleotide polymorphisms TLR2 (rs5743708), TLR4 (rs4986790, rs4986791), TLR6 (rs5743810) were analyzed by real-time PCR. Statistical was carried out by using SPSS 23.0 software. Gene allele and genotype rates were assessed by using a two-way Fisher criterion, and in cases of multiple comparisons, the Bonferroni correction. An increase of *TLR2G* and *TLR2GG* was revealed in COVID-19 patients. Heterozygosity in this position was significantly reduced in the group of patients. No differences in the frequencies of genotypes between groups with different disease severity was observed. TLR2-753 ArgArg:TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr were decreased in patients with a combined moderate-severe vs. mild COVID-19. CVD patients with TLR4-299 AspAsp, TLR4-299 AspAsp:TLR4-399ThrThr were significantly more likely to suffer from severe COVID-19. The complex TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr and TLR2-753 ArgArg:TLR4-299 AspGly:TLR4-399 ThrThr are associated with a milder disease course. Six complexes were identified, the frequency of which is significantly higher in COVID-19 convalescent patients with cardiovascular

complications. These data confirm that the *TLR* polymorphism affects COVID-19 development and clinical diversity.

Keywords: COVID-19; toll-like receptor genes; TLR-2, TLR-4, TLR-6, molecular marker; severity of course.

1 Введение

Пандемия COVID-19 показала, что наличие предшествующего сердечно-сосудистого заболевания является важным фактором риска тяжелого клинического течения инфекционного процесса и связано с неблагоприятными исходами. Кроме того, выявлена и обратная закономерность - COVID-19 часто усугубляется сердечно-сосудистыми осложнениями, такими как тромбоэмболические события, злокачественная аритмия и повреждение миокарда. Осложнения зачастую проявляются у пациентов, которые ранее не страдали заболеваниями сердечно-сосудистой системы [20,31]. Наиболее распространенные сердечные осложнения, связанные с COVID-19, включают, помимо прочего, острый перикардит, острое повреждение миокарда, острый миокардит, различные аритмии, микрососудистую ангиопатию, дисфункцию левого желудочка, сердечную недостаточность, острое повреждение сердца и острый коронарный синдром [11,25]. При этом взаимосвязь между COVID-19 и сердечно-сосудистой системой представляется весьма сложной и на сегодняшний день до конца не изученной, несмотря на постоянно растущие клинические и эпидемиологические данные.

При заражении SARS-CoV-2, вирусом, вызывающим COVID-19, активируется врожденный иммунный ответ через филогенетически сохраненное семейство толл-подобных рецепторов (TLR) [6]. TLR - это рецепторы распознавания образов, ответственные за обнаружение патогенов и индукцию врожденных иммунных реакций. TLR критически связывают врожденный иммунитет с адаптивным иммунитетом, регулируя активацию антигенпрезентирующих клеток и ключевых цитокинов. Кроме того, недавние исследования также показали, что сигнализация TLR может напрямую регулировать активацию, рост, дифференцировку, развитие и функционирование Т-клеток в различных физиологических условиях [15]. TLR экспрессируются на всех врожденных иммунных клетках и на большинстве негематопоетических клеток, таких как макрофаги, нейтрофилы,

31 ДК, естественные клетки-киллеры, тучные клетки, базофилы, эозинофилы и
32 эпителиальные клетки [23]. Важно, что TLR также могут быть обнаружены на
33 адаптивных иммунных клетках, включая Т- и В-клетки [19,27]. Было показано,
34 что при вирусном инфицировании рецепторы клеточной поверхности TLR2/6
35 и TLR4 распознают структурные компоненты, включая белки и гликолипиды
36 [22].

37 С другой стороны, появляется все больше доказательств, указывающих
38 на роль TLR в патогенезе атеросклероза, тромбоза и других сердечно-
39 сосудистых заболеваний. При этом, однонуклеотидные замены (SNP) в генах
40 TLR можно рассматривать как один из основных генетических факторов
41 риска, способствующих восприимчивости к сердечно-сосудистым
42 заболеваниям [26,32].

43 Показано, что полиморфизм кодирующих TLR генов влияет на
44 аминокислотную структуру рецепторов, лигандсвязывающую и
45 корцепторную функции, способствуя нарушению определенных ключевых
46 сигнальных путей [35]. Это может существенным образом влиять на тяжесть
47 заболевания, возможные осложнения и клинический исход. Цель
48 исследования – проведение комплексного сравнительного анализа
49 полиморфизма генов толл-подобных рецепторов *TLR2* (rs5743708), *TLR4*
50 (rs4986790, rs4986791), *TLR6* (rs5743810) у пациентов перенесших COVID -19
51 для выявления маркеров восприимчивости к развитию заболевания, тяжести
52 течения и развитию сердечно-сосудистых осложнений.

53 2 Материалы и методы

54 Пациенты. В исследование включено 260 пациентов в возрасте 26-84
55 года (47,5% мужчины), средний возраст составил 53,09±13,22 года. Критерии
56 включения в исследование: наличие COVID-19, подтвержденное
57 положительным анализом - РНК-коронавируса SARS-CoV-2 методом ПЦР во
58 время заболевания и/или наличие антител IgG к коронавирусу SARSCoV-2;
59 истечение двух месяцев после реконвалесценции. В исследование не были
60 включены пациенты с сопутствующими острыми или хроническими

61 заболевания в фазе обострения или неполной ремиссии. Все пациенты дали
62 свое информированное согласие на участие в исследовании. Исследование
63 было одобрено Этическим комитетом НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН, г.
64 Новосибирска (протокол № 71 от 10.11.2020). В ходе исследования
65 учитывались демографические характеристики (пол, возраст), наличие
66 хронических заболеваний в анамнезе, в том числе сердечно-сосудистых
67 заболеваний (ССЗ): ишемическую болезнь сердца, артериальную
68 гипертензию, перенесенный инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового
69 кровообращения. Каждый пациент проходил анкетирование. Обследование
70 больных проводилось стандартизированной бригадой скрининга. В группе лиц с
71 развитым постковидным синдромом были выявлены впервые возникшие
72 сердечно-сосудистые заболевания, а также декомпенсация уже имеющихся, до
73 инфицирования COVID-19, заболеваний сердечно-сосудистой системы (ТИА,
74 АГ, ХСН, дислипидемия, вероятная ИБС, нарушения ритма). Диагнозы были
75 выставлены врачом-кардиологом на основании данных анамнеза и
76 результатов проведенных исследований. Пациенты были разделены на 3
77 группы по анамнезу в соответствии с тяжестью течения COVID-19 в
78 соответствии с российскими методическими рекомендациями [4]: 1 группа -
79 122 пациента с легким течением, 2 группа - 124 пациента со среднетяжёлым
80 течением, 3 группа — 14 пациентов с тяжелым течением инфекции. В группу
81 сравнения (популяционная группа) вошли 100 человек, жителей
82 Новосибирской области соответствующие группе пациентов по полу и
83 возрасту, типированных по *TLR* генам до начала эпидемии COVID-19.

84 Генотипирование. Однонуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide
85 Polymorphism, SNP) генов *TLR2* (rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791),
86 *TLR6* (rs5743810) анализировали методом полимеразной цепной реакции в
87 реальном времени (РТ-ПЦР) с использованием коммерческих тест-систем с
88 интеркалирующим красителем Syber Green (Литех, Россия) в соответствии с
89 рекомендациями фирмы - производителя.

90 Статистическая обработка. Статистическая обработка результатов
91 проводилась с помощью программ для расширенной аналитики данных - IBM
92 SPSS Statistics 23 и Arlequin 3.5.2. При анализе результатов генетического
93 исследования рассчитывали частоту встречаемости аллелей, генотипов и их
94 полилокусных комбинаций, отношение шансов (OR), 95% доверительный
95 интервал для OR (OR_CI95%). Распределение генотипов по исследованным
96 полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди -
97 Вайнберга, основанного на использовании точного критерия Фишера.
98 Уровень значимости различий частот распределения генетических признаков
99 (аллелей, простых и комплексных генотипов) в сравниваемых группах
100 определяли по двустороннему критерию точного метода Фишера для
101 четырехпольных таблиц. Статистически значимыми считались различия при p
102 $<0,05$ с учетом поправки Бонферрони [2].

103 3 Результаты

104 Нами проведен анализ распределения частоты полиморфных вариантов
105 кодирующих регионов генов *TLR2* (rs5743708), *TLR4* (rs4986790, rs4986791),
106 *TLR6* (rs5743810) в группе пациентов, переболевших COVID-19 относительно
107 популяционной группы. Распределение генотипов по исследованным
108 полиморфным локусам в группах соответствовало равновесию Харди -
109 Вайнберга. Выявлено достоверное увеличение частоты *TLR2 G* аллельного
110 варианта гена и *GG* гомозиготного генотипа у пациентов, перенесших
111 инфекционное заболевание относительно популяционной группы. При этом
112 гетерозиготность в данной полиморфной позиции значимо снижена в группе
113 переболевших. Распределение частот аллельных вариантов и генотипов в
114 других анализируемых нами позициях между двумя группами достоверно не
115 различалось (таблица 1). Не выявлено различий и при анализе единичных
116 исследуемых полиморфных позиций между группами с разной степенью
117 тяжести протекания заболевания - тяжелой - средней - легкой. Однако при
118 анализе комплексов показано снижение частоты TLR2-753 ArgArg:TLR4-299
119 AspGly:TLR4-399 ThrThr комплекса у пациентов с объединенной средне -

120 тяжелой формой протекания заболевания относительно перенесших его в
121 легкой форме (OR=0,39, P=0,0461) (таблица 2).

122 Учитывая, что наличие в анамнезе пациентов сердечно-
123 сосудистых заболеваний может влиять на тяжесть течения COVID-19,
124 мы проанализировали характер распределения исследуемых нами
125 полиморфных маркеров в этой группе больных. Не было выявлено
126 различий между пациентами со средней тяжестью протеканием
127 инфекционного процесса относительно легкого при анализе
128 единичных генотипов. Поскольку не выявлено статистически значимой
129 разницы между пациентами со средней и тяжелой формой протекания
130 инфекционного процесса, мы объединили их в единую группу - средне-
131 тяжелую. Показано, что пациенты с ССЗ при наличии TLR4-299
132 AspAsp достоверно чаще переносили COVID-19 в более тяжелой форме
133 (средняя + тяжелая относительно легкой формы) (OR=2,28, P=0,0293).
134 Эта особенность сохранялась и при наличии комплекса TLR4-299
135 AspAsp:TLR4-399ThrThr, однако, отношение шансов развития более
136 тяжелой формы протекания инфекционного заболевания в комплексе
137 снижалось (OR=2,18, P=0,0465). Комплексные маркеры TLR4-299
138 AspGly:TLR4-399 ThrThr и TLR2-753 ArgArg:TLR4-299 AspGly:TLR4-
139 399 ThrThr, напротив, ассоциированы с более легким протеканием
140 инфекционного процесса у этих пациентов. Эти комплексы
141 преобладали у пациентов с протеканием COVID-19 в легкой форме
142 относительно пациентов переболевших со средней тяжестью и
143 относительно объединенной группы со средне – тяжелой формой
144 протекания заболевания (OR=0,08, P=0,0043 для двух комплексов и
145 OR=0,08, P=0,0030 для двух комплексов). Высокая статистическая
146 достоверность данных различий сохранялось и при введении поправки
147 Бонферрони на множественность сравнений (Таблица 3).

148 Из 260 пациентов, переболевших COVID-19 с разной степенью
149 тяжести у 106 человек до заболевания в анамнезе не было сердечно-

150 сосудистой патологии. Из этих пациентов сформированы 2 субгруппы:
151 1- с выявленными сердечно-сосудистые нарушениями после
152 перенесенного инфекционного заболевания и 2- без сердечно
153 сосудистых осложнений после COVID-19. Анализ полиморфизма *TLR*
154 в этих субгруппах приведен в таблице 4.

155 Не показано разницы в распределении частот единичных
156 анализируемых маркеров между двумя субгруппами. Однако выявлено шесть
157 комплексов, частота которых значимо выше у пациентов с развитием
158 сердечно-сосудистых осложнений после перенесенного COVID-19
159 относительно пациентов, без подобных осложнений. Причем в четырех из них
160 достоверность различий сохраняется и при введении поправки Бонферрони на
161 множественность сравнений. При этом отношения шансов развития сердечно-
162 сосудистых осложнений достаточно высоки ($OR = 5,33$ и $OR = 5,68$ для разных
163 комплексов).

164 4 Обсуждение

165 Как компонент неспецифического иммунитета, толл-подобные
166 рецепторы в разной степени могут участвовать в патогенных процессах.
167 Значимая роль в распознавании белка оболочки SARS-CoV-2 поверхностным
168 рецептором TLR2 описана во многих публикациях [14,37]. Мембранный белок
169 TLR6, образующий гетеродимерный комплекс с TLR2, так же относят к
170 подгруппе «TLR2» рецепторов [30]. Молекулярные исследования выявили
171 взаимодействие белка S SARS-CoV-2 с внеклеточным доменом TLR6. Кроме
172 того, показано, что образующиеся TLR2/TLR6 гетеродимеры участвуют в
173 регуляции провоспалительных реакций за счет связывания со
174 специфическими вирусными гликопротеинами, хотя биологическая функция
175 TLR в комплексах все еще остается невыясненной [14,17]. Генетический
176 полиморфизм *TLR2* rs5743708 (с.2258G>A), приводящий к замене аргинина на
177 глутамин в остатке 753 (Arg753Gln), связывают с отрицательным влиянием на

178 функцию TLR2. При наличии полиморфизмов *TLR2* rs5743708 и/или *TLR4*
179 rs4986791 сниженная аффинность связывания белков E и S соответственно
180 может объяснять неадекватный иммунный ответ против SARS-CoV-2,
181 который не контролирует инфекцию, ухудшая исход заболевания [10].
182 Полиморфизм *TLR6* rs5743810 (C745T) приводит к аминокислотной замене
183 цитозина на тимин Pro249Ser. Распределение частот аллельных вариантов
184 генов в данной полиморфной позиции в популяциях, согласно базе данных
185 NCBI, сильно различается. Единого мнения относительно ассоциированности
186 полиморфизма *TLR2* rs5743708 с развитием и тяжестью течения COVID-19 на
187 сегодняшний день нет. Так, в работе отечественных ученых не выявлено
188 непосредственной связи *TLR2* rs5743708 с протеканием инфекционного
189 процесса [3]. Однако в ряде работ минорный аллель A *TLR2* rs5743708
190 связывают с более высоким риском заражения COVID-19 и представляют
191 значительным фактором риска тяжелого течения и неблагоприятного исхода.
192 При этом не показано влияния на образование тромбов и сердечно -
193 сосудистых осложнений [7,10,37]. В нашем исследовании, напротив, показано,
194 что наличие минорного аллельного варианта в генотипе связано с более
195 низким риском заражения, а гомозиготный вариант дикого типа является
196 фактором риска восприимчивости к вирусу. Однако полиморфизм в данной
197 позиции непосредственно не связан как с тяжестью течения инфекционного
198 процесса, так и с сердечно-сосудистыми осложнениями. Данный генотип
199 входит в состав комплексов генотипов, что показано при анализе пациентов с
200 сердечно-сосудистыми проблемами, однако его роль не является ведущей.
201 Непосредственной связи полиморфизма *TLR6* rs5743810 с инфекционным
202 процессом при COVID-19 нами выявлено не было, что аналогично данным
203 других исследований [1].

204 Исследование TLR4 важно для понимания механизмов проникновения
205 вируса, течения воспалительного процесса, терапии и иммунизации против
206 SARS CoV-2 у пациентов с COVID-19. Показано, что спайковый белок SARS
207 CoV-2 имеет сродство к связыванию TLR4, что, как предполагается,

208 увеличивает экспрессию ACE2 в пневмоцитах и кардиомиоцитах 2 типа и
209 приводит к индукции провоспалительных цитокинов, вызывающих
210 гипервоспаление. Есть гипотеза, что TLR4 потенциально помогает SARS CoV-
211 2 проникать непосредственно в клетки хозяина. Кроме того, показано, что
212 антагонисты TLR4 могут ингибировать острый респираторный дистресс-
213 синдром и тромбоз, вызванный активацией TLR4 на клетках легких и
214 тромбоцитах [5,12,36]. Важно, что ингибирование TLR4 является
215 потенциальным подходом к лечению пациентов с COVID-19 с тяжелой
216 иммунопатологией [24]. В кодирующей области гена *TLR4* выявлено два
217 однонуклеотидных полиморфизма, *TLR4 896 A > G* (соответствует замене
218 Asp299Gly; SNP ID: rs 4986790) и *TLR4 1196 C > T* (соответствует замене
219 Thr399Ile; SNP ID: rs 4986791), находящиеся у европеоидов в неравновесном
220 сцеплении. Полиморфизм TLR4 Asp299Gly лежит во внеклеточном домене
221 рецептора. Кристаллографические исследования показывают, что связывание
222 LPS с TLR4 минорного типа происходит таким же образом, как и TLR4 дикого
223 типа, но есть локальные конформационные изменения. Влияние
224 полиморфизма Thr399Ile на структуру LPS-TLR4/MD2 минимально. Несмотря
225 на множество кристаллографических и функциональных исследований,
226 остается неясным, как именно эти SNP изменяют реактивность TLR4 [18,38].
227 Однако показано, что *TLR4* SNP в ответ на микробные инфекции могут
228 вызывать дисрегуляцию воспалительных сигналов, продуцируемых в каждом
229 из путей TLR4. Таким образом, дифференциальные ответы на стимуляцию
230 путей TLR4 из-за этих SNP могут привести к неспособности пациентов с
231 COVID-19 контролировать репликацию SARS CoV-2, что в конечном итоге
232 может привести к развитию тяжелых симптомов [8]. Несмотря на доказанное
233 функциональное участие белковых продуктов толл - подобных рецепторов в
234 развитии инфекционного процесса, исследований корреляции полиморфизма
235 кодирующих их генов с COVID-19 недостаточно и данные не однозначны. Так,
236 не обнаружено никакой связи TLR4 (Asp299Gly и Thr399Ile) между общей
237 популяцией и пациентами с COVID-19 в регионе Курдистан в Ираке [8]. В то

238 время как в исследовании в Египетской популяции минорные аллели TLR 4
239 299Gly (G) и TLR 4399Ile (T) оказались связаны с тяжестью течения COVID-
240 19, высокой смертностью, развитием цитокинового шторма и высоким
241 уровнем IL-6 [28,29]. Аналогичные результаты получены и Мексиканскими
242 исследователями, показавшими, что генотип *TLR 4 GG rs4986790* связан с
243 риском COVID-19 и острого респираторного дистресс-синдрома. При этом,
244 мононуклеарные клетки периферической крови пациентов, имеющих генотип
245 *rs4986790 GG* отличались ограниченной доставкой провоспалительных
246 цитокинов по сравнению с генотипами AA и AG, где стимуляция TLR-4
247 индуцировала продукцию IL-10, IL-6, фактора некроза опухоли- α и лиганда
248 Fas [16]. Противоположные данные получены для пациентов Германии, где
249 показано, что генотип *TLR4 rs4986790 AG/GG (AspGly/GlyGly)* вдвое снижал
250 риск госпитализации, интенсивной терапии или летального исхода у
251 пациентов с COVID-19 [33]. Схожие результаты получены и в нашем
252 исследовании, где показана ассоциированность *TLR4 rs4986790 AA(AspAsp)* с
253 протеканием COVID-19 в более тяжелой форме у пациентов, имеющих ССЗ в
254 анамнезе как при единичном генотипе, так и в комплексах с *TLR4 rs4986791*.
255 Этот же генотип *TLR4 rs4986790* в комплексах повышен и у пациентов с
256 осложнениями в виде ССЗ после перенесенной инфекции. Ранее получены
257 данные, что TLR4 связан с различными стадиями атеросклероза, а его
258 экспрессия увеличена в пораженных атеросклеротических сосудах человека
259 [9]. В ряде работ показано, что субъекты с минорным аллелем *TLR4 rs4986790*
260 (299Gly) имели более низкий риск атеросклероза сонных артерий [21]. Однако
261 проведенные метаанализы не показали прямой связи полиморфизма *TLR4*
262 *rs4986790* и *TLR4 rs4986791* с развитием атеросклероза и ИБС [13,34].

263 Подобные расхождения результатов исследования могут быть
264 обусловлены различным распределением аллелей в популяциях. Кроме того,
265 показана косегрегация по этим двум позициям TLR4 у европейцев в отличие
266 от азиатского и африканского населения, где косегрегация по этим позициям
267 отсутствует, что может способствовать подобным различиям и объяснять,

268 почему большинство значимых ассоциаций было отмечено для эндемичных
269 заболеваний именно в Азии и Африке [38].

270 **5 Заключение**

271 Полученные данные подтверждают, что однонуклеотидный
272 полиморфизм анализируемых нами генов толл-подобных рецепторов
273 определенным образом влияет на развитие и клинический полиморфизм
274 характера течения COVID-19. Кроме того, наши исследования
275 свидетельствуют о необходимости перехода от оценки значимости отдельных
276 генетических вариантов к разработке полигенных показателей риска с учетом
277 межгенных взаимодействий, которые лучше подходят для оценки риска и
278 прогрессирования заболевания путем одновременного анализа нескольких
279 генетических позиций и с учетом популяционных особенностей
280 анализируемых групп.

281 **Благодарности**

282 Авторы благодарят лаборанта лаборатории клинической и
283 экспериментальной лимфологии НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН Барсукову
284 Галину Александровну за большой вклад в проведение исследований.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Анализ частот полиморфных маркеров в группах пациентов, переболевших COVID-19 и в группе сравнения.

Table 1. Analysis of the frequencies of polymorphic markers in the groups of patients with COVID-19 and in the comparison group.

Полиморфная позиция	аминокислоты	Аллель / генотип	Пациенты переболевшие COVID-19 N=260	Группа сравнения N= 100	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
Polymorphic position	amino acid	Allele/genotype	Patients with COVID-19 N=260	Comparison Group N= 100	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
TLR2-753 rs5743708	Arg	G	504(96,92)	186(93,00)	2,37	1,13 - 4,95	0,0227	0,0454
	Gln	A	16(3,08)	14(7,00)	0,42	0,20 - 0,88		
TLR4-299 rs4986790	Asp	A	445(85,58)	180(90,00)	0,66	0,39 - 1,11	0,1398	0,2796
	Gly	G	75(14,42)	20(10,00)	1,52	0,90 - 2,56		
TLR4-399	Thr	C	461(89,34)	188(94,00)	0,54	0,28 - 1,02	0,0626	0,1252

rs4986791	Ile	<i>T</i>	55(10,66)	12(6,00)	1,87	0,98 - 3,57		
TLR6-249	Ser	<i>C</i>	185(35,58)	79(39,50)	0,85	0,60 - 1,18	0,3429	0,6858
rs5743810	Pro	<i>T</i>	335(64,42)	121(60,50)	1,18	0,85 - 1,65		
TLR2-753	ArgArg	<i>GG</i>	245(94,23)	86(86,00)	2,66	1,23 - 5,74	0,0160	0,0480
rs5743708	ArgGln	<i>GA</i>	14(5,38)	14(14,00)	0,35	0,16 - 0,76	0,0137	0,0411
	GlnGln	<i>AA</i>	1(0,38)	0(0,00)	ns	0,07 - 8,66	1,0000	3,0000
TLR4-299	AspAsp	<i>AA</i>	190(73,08)	82(82,00)	0,60	0,33 - 1,06	0,0999	0,2997
rs4986790	AspGly	<i>AG</i>	65(25,00)	16(16,00)	1,75	0,96 - 3,20	0,0689	0,2067
	GlyGly	<i>GG</i>	5(1,92)	2(2,00)	0,96	0,18 - 5,03	1,0000	3,0000
TLR4-399	ThrThr	<i>CC</i>	207(80,23)	88(88,00)	0,55	0,28 - 1,09	0,0905	0,2715
rs4986791	ThrIle	<i>CT</i>	47(18,22)	12(12,00)	1,63	0,83 - 3,23	0,2035	0,6105
	IleIle	<i>TT</i>	4(1,55)	0(0,00)	1,98	0,23 - 17,16	0,5796	1,7388
TLR6-249	SerSer	<i>CC</i>	32(12,31)	15(15,00)	0,80	0,41 - 1,54	0,4893	1,4679
rs5743810	SerPro	<i>CT</i>	121(46,54)	49(49,00)	0,91	0,57 - 1,44	0,7241	2,1723
	ProPro	<i>TT</i>	107(41,15)	36(36,00)	1,24	0,77 - 2,00	0,4014	1,2042

Примечание: OR – отношения шансов, OR_CI95- 95% доверительный интервал OR, P_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний), P_COR_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний) с поправкой Бонферрони

Note: OR - odds ratio; OR's 95%CI - 95% confidence interval for OR; P(tmF2) - level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided). P_COR_TMF2- level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided) with Bonferroni correct

Таблица 2. Анализ распределения полиморфных маркеров между группами с разной степенью протекания заболевания – тяжелой + средней относительно легкой.

Table 2. Analysis of the distribution of polymorphic markers between groups with varying degrees of disease – severe + moderate relative to mild.

Полиморфная позиция	аминокислота	генотип	Пациенты со среднее+тяжелым течением заболевания N=138(%)	Пациенты с легким течением заболевания N=122(%)	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
Polymorphic position	amino acid	genotype	Patients with moderate+severe course of the disease N=138(%)	Patients with a mild course of the disease N=122(%)	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
TLR2-753	ArgArg	GG	128(92,75)	117(95,90)	0,55	0,18 - 1,65	0,3018	0,9054

	ArgGln	GA	9(6,52)	5(4,10)	1,63	0,53 - 5,01	0,4240	1,2720
	GlnGln	AA	1(0,72)	0(0,00)	1,78	0,16 - 19,90	1,0000	3,0000
TLR4-299	AspAsp	AA	105(76,09)	85(69,67)	1,39	0,80 - 2,40	0,2645	0,7935
	AspGly	AG	32(23,19)	33(27,05)	0,81	0,46 - 1,43	0,4775	1,4325
	GlyGly	GG	1(0,72)	4(3,28)	0,22	0,02 - 1,95	0,1897	0,5691
TLR4-399	ThrThr	CC	110(80,88)	97(79,51)	1,09	0,59 - 2,01	0,8758	2,6274
	ThrIle	CT	25(18,38)	22(18,03)	1,02	0,54 - 1,93	1,0000	3,0000
	IleIle	TT	1(0,74)	3(2,46)	0,29	0,03 - 2,86	0,3469	1,0407
TLR6-249	SerSer	CC	17(12,32)	15(12,30)	1,00	0,48 - 2,10	1,0000	3,0000
	SerPro	CT	63(45,65)	58(47,54)	0,93	0,57 - 1,51	0,8038	2,4114
	ProPro	TT	58(42,03)	49(40,16)	1,08	0,66 - 1,77	0,8013	2,4039
TLR2-753:TLR4-299:TLR4-399	ArgArg-AspGly-ThrThr	GG-AG-CC	7(5,15)	15(12,30)	0,39	0,15 - 0,98	0,0461	0,4610

Примечание: OR – отношения шансов, OR_CI95- 95% доверительный интервал OR, P_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний), P_COR_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний) с поправкой Бонферрони

Note: OR - odds ratio; OR's 95%CI - 95% confidence interval for OR; P(tmF2) - level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided). P_COR_TMF2- level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided) with Bonferroni correct

Таблица 3. Анализ распределения полиморфных маркеров между группами пациентов с сердечно-сосудистыми проблемами в анамнезе, переболевших COVID- 19 с разной степенью тяжести.

Table 3. Analysis of the distribution of polymorphic markers between groups of patients with a history of cardiovascular problems who have had COVID-19 with of varying severity.

Полиморфная позиция	аминокислота	Пациенты с ССЗ до перенесенного в средней форме COVID N=74(%)	Пациенты с ССЗ до перенесенного в средне-тяжелой форме COVID N=83(%)	Пациенты с ССЗ до перенесенного в легкой форме COVID N=71(%)	OR	OR	OR_CI95	OR_CI95	P_TM F2	P_TMF 2
Polymorphic position	amino acid	Patients with CVD	Patients with CVD	Patients with CVD	OR	OR	OR_CI95	OR_CI95	P_TM F2	P_TMF 2

		before moderate COVID N=74(%)	before moderate- severe COVID N=83(%)	before mild COVID N=71(%)						
1	2	3	4	5	3/5	4/5	3/5	4/5	3/5	4/5
TLR2-753	ArgArg	69(93,24)	78(93,98)	69(97,18)	0,40	0,45	0,08 – 2,13	0,08 - 2,41	0,4422	0,4526
	ArgGln	4(5,41)	4(4,82)	2(2,82)	1,97	1,75	0,35 – 11,12	0,31 - 9,83	0,6813	0,6872
	GlnGln	1(1,35)	1(1,20)	0(0,00)	1,95	1,73	0,17 – 21,93	0,15 - 19,53	1,0000	1,0000
TLR4-299	AspAsp	59(79,73)	67(80,72)	46(64,79)	2,14	2,28	1,01 – 4,51	1,10 - 4,73	0,0625	0,0293
	AspGly	15(20,27)	16(19,28)	22(30,99)	0,57	0,53	0,27 – 1,21	0,25 - 1,12	0,1823	0,1330
	GlyGly	0(0,00)	0(0,00)	3(4,23)	0,23	0,21	0,03 – 2,11	0,02 - 1,88	0,1149	0,0958
TLR4-399	ThrThr	58(79,45)	65(80,25)	55(77,46)	1,12	1,18	0,51 – 2,49	0,54 - 2,58	0,8406	0,6947
	ThrIle	15(20,55)	16(19,75)	14(19,72)	1,05	1,00	0,47 – 2,38	0,45 - 2,23	1,0000	1,0000
	IleIle	0(0,00)	0(0,00)	2(2,82)	0,32	0,28	0,03 – 3,10	0,03 - 2,80	0,2414	0,2165
TLR6-249	SerSer	6(8,11)	8(9,64)	9(12,68)	0,61	0,73	0,20 – 1,81	0,27 - 2,02	0,4219	0,6115
	SerPro	36(48,65)	41(49,40)	31(43,66)	1,22	1,26	0,64 – 2,35	0,67 - 2,38	0,6181	0,5192
	ProPro	32(43,24)	34(40,96)	31(43,66)	0,98	0,90	0,51 – 1,90	0,47 - 1,70	1,0000	0,7464

TLR4- 299:TLR4- 399	AspAsp -ThrThr	57(63,38)	64(79,01)	45(63,38)	2,06	2,18	0,99 – 4,29	1,06 - 4,47	0,0668	0,0465
TLR4- 299:TLR4- 399	AspGly -ThrThr	1(1,37)	1(1,23)	10(14,08)	0,08*	0,08***	0,01 – 0,68	0,01 - 0,61	0,0043	0,0030
TLR2- 753:TLR4- 299:TLR4- 399	ArgArg - AspGly -ThrThr	1(1,37)	1(1,23)	10(14,08)	0,08**	0,08****	0,01 – 0,68	0,01 - 0,61	0,0043	0,0030

Примечание: OR – отношения шансов, OR_CI95- 95% доверительный интервал OR, P_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний), P_COR_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний) с поправкой Бонферрони, * P_COR_TMF2 =0,0258, ** P_COR_TMF2=0,0387, *** P_COR_TMF2=0,0180, **** P_COR_TMF2=0,0270

Note: OR - odds ratio; OR's 95%CI - 95% confidence interval for OR; P(tmF2) - level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided). P_COR_TMF2- level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided) with Bonferroni correct, * P_COR_TMF2 =0,0258, ** P_COR_TMF2=0,0387, *** P_COR_TMF2=0,0180, **** P_COR_TMF2=0,0270

Таблица 4. Анализ распределения полиморфных маркеров в группах пациентов с сердечно-сосудистыми осложнениями после перенесенной коронавирусной инфекции относительно переболевших пациентов без аналогичных осложнений.

Table 4. Analysis of the distribution of polymorphic markers in groups of patients with cardiovascular complications after coronavirus infection relative to patients who had been ill without similar complications.

Полиморфная позиция	аминокислота	Пациенты с сердечно-сосудистыми осложнениями N=15(%)	Пациенты без сердечно-сосудистых осложнений N=91(%)	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
Polymorphic position	amino acid	Patients with cardiovascular complications N=15(%)	Patients without cardiovascular complications N=91(%)	OR	OR_CI95	P_TMF2	P_COR_TMF2
TLR2-753	ArgArg	15(100,00)	83(91,21)	1,71	0,20 - 14,48	0,5974	1,1948
	ArgGln	0(0,00)	8(8,79)	0,58	0,07 - 4,93	0,5974	1,1948
	GlnGln	0(0,00)	0(0,00)	ns	ns	ns	ns

TLR4-299	AspAsp	12(80,00)	65(71,43)	1,60	0,42 - 6,14	0,7552	2,2656
	AspGly	3(20,00)	24(26,37)	0,70	0,18 - 2,69	0,7554	2,2662
	GlyGly	0(0,00)	2(2,20)	1,88	0,18 - 19,17	1,0000	3,0000
TLR4-399	ThrThr	12(80,00)	75(82,42)	0,85	0,22 - 3,38	0,7301	2,1903
	ThrIle	3(20,00)	14(15,38)	1,38	0,34 - 5,51	0,7051	2,1153
	IleIle	0(0,00)	2(2,20)	1,88	0,18 - 19,17	1,0000	3,0000
TLR6-249	SerSer	1(6,67)	14(15,38)	0,39	0,05 - 3,23	0,6895	2,0685
	SerPro	5(33,33)	44(48,35)	0,53	0,17 - 1,69	0,4031	1,2093
	ProPro	9(60,00)	33(36,26)	2,64	0,86 - 8,06	0,0946	0,2838
TLR4-299:TLR6-249	AspAsp- ProPro	9(60,00)	20(21,98)	5,33	1,69 - 16,75	0,0044	0,0352
TLR4-399:TLR6-249	ThrThr- ProPro	9(60,00)	26(28,57)	3,75	1,21 - 11,59	0,0344	0,2752
TLR2-753:TLR4-299:TLR6-249	ArgArg- AspAsp- ProPro	9(60,00)	20(21,98)	5,33	1,69 - 16,75	0,0044	0,0484

TLR2-753:TLR4-399:TLR6-249	ArgArg- ThrThr- ProPro	9(60,00)	25(27,47)	3,96	1,28 - 12,27	0,0178	0,1958
TLR4-299:TLR4-399:TLR6-249	AspAsp- ThrThr- ProPro	9(60,00)	19(20,88)	5,68	1,80 - 17,95	0,0032	0,0384
TLR2-753:TLR4-299:TLR4-399:TLR6-249	ArgArg- AspAsp- ThrThr- ProPro	9(60,00)	19(20,88)	5,68	1,80 - 17,95	0,0032	0,0480

Примечание: OR – отношения шансов, OR_CI95- 95% доверительный интервал OR, P_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний), P_COR_TMF2- уровень статистической значимости различий (p) по точному методу Фишера (двухсторонний) с поправкой Бонферрони, ns- несущественно

Note: OR - odds ratio; OR's 95%CI - 95% confidence interval for OR; P(tmF2) - level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided). P_COR_TMF2- level of statistical significance (p) of differences according to the exact Fisher test (two-sided) with Bonferroni correct, ns- unimportant

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Шевченко Алла Владимировна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», ул.Тимакова 2, Новосибирск, Россия, 630060;

телефон: 8(952)901-36-80;

ORCID iD: 0000-0001-5898-950X;

e-mail: shalla64@mail.ru

Shevchenko Alla V., PhD, Dr. Biol. Sci., Leading Researcher, Laboratory of Clinical Immunogenetics, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, 630060, Timakov Str. 2;

телефон: 8(952)901-36-80;

ORCID iD: 0000-0001-5898-950X;

e-mail: shalla64@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Прокофьев Виктор Федорович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН;

ORCID iD: 0000-0001-7290-1631;

e-mail: vf_prok@mail.ru

Prokofiev Viktor F., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Immunogenetics RICEL- Branch of IC&G SB RAS;

e-mail: vf_prok@mail.ru

Коненков Владимир Иосифович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН, руководитель лаборатории клинической иммуногенетики;

ORCID iD 0000-0001-7385-6270;

e-mail: vikonenkov@gmail.com

Konenkov Vladimir I., MD, PhD, Dr. Med. Sci., Professor, Academician of Russian Academy of Science, Head of the Laboratory of Clinical Immunogenetics RICEL- Branch of IC&G SB RAS;

e-mail: vikonenkov@gmail.com

Карасева Александра Александровна – мл.науч.сотрудник лаборатории генетических и средовых детерминант жизненного цикла человека НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН;

ORCID iD 0000-0002-0423-5021;

e-mail: Sas96@bk.ru

Karaseva Alexandra A., Junior Researcher of the Laboratory of Genetic and Environmental Determinants of the Human Life Cycle IIPM — Branch of IC&G SB RAS;

e-mail: Sas96@bk.ru

Афанасьева Алёна Дмитриевна – канд.мед.наук, зав. лабораторией генетических и средовых детерминант жизненного цикла человека НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН;

ORCID iD 0000-0001-7875-1566;

e-mail: alena.dmytryevna@yandex.ru

Afanaseva Alena D., MD, PhD, head Laboratory of Genetic and Environmental Determinants of the Human Life Cycle IIPM — Branch of IC&G SB RAS;

e-mail: alena.dmytryevna@yandex.ru

Логвиненко Ирина Ивановна – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник
лаборатории профилактической медицины НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО
РАН;

ORCID iD 0000-0003-1348-0253;

e-mail: 111157@mail.ru

Logvinenko Irina I., Dr. Med. Sci., Professor, Chief Researcher of the Laboratory
of Preventive Medicine IPM — Branch of IC&G SB RAS;

e-mail: 111157@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ (*TLR-2*, *TLR-4* И *TLR-6*) С ИНФЕКЦИЕЙ SARS COV-2 В ЗАПАДНО-СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

ASSOCIATION OF TOLL-LIKE RECEPTOR GENES POLYMORPHISM (*TLR2*, *TLR4*, AND *TLR6*) WITH SARS COV-2 INFECTION IN THE WEST SIBERIAN REGION OF RUSSIA

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ПОЛИМОРФИЗМ *TLR 2,4,6* ПРИ COVID-19

TLR 2, 4, 6 POLYMORPHISM IN COVID-19

Ключевые слова: COVID-19; гены толл-подобных рецепторов; *TLR-2*, *TLR-4*, *TLR-6*, молекулярный маркер; тяжесть течения.

Keywords: COVID-19; toll-like receptor genes; *TLR-2*, *TLR-4*, *TLR-6*, molecular marker; severity of course.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 10,

количество таблиц – 4,

количество рисунков – 0.

28.02.2025.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Евдокимов А.В., Сулова Т.А., Беляева С.В., Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д.С. Полиморфизм генов TLR и течение двусторонней пневмонии при COVID-19 // Медицинский академический журнал. 2021. Т. 21. № 4. С. 57-66.	Evdokimov A.V., Suslova T.A., Belyaeva S.V., Burmistrova A.L., Stashkevich D.S. Polymorphism of TLR genes and the course of COVID-19 bilateral pneumonia. Medical academic journal, 2021, vol. 21, no. 4, pp. 57-66.	doi: 10.17816/MAJ90324
2	Наркевич А. Н., Виноградов К. А., Гржибовский А. М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения // Экология человека. 2020. № 10. С. 55–64.	Narkevich A. N., Vinogradov K. A., Grjibovski A. M. Multiple Comparisons in Biomedical Research: the Problem and its Solutions. Ekologiya cheloveka [Human Ecology]. 2020, no.10, pp. 55-64.	doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-55-64

4	Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 15 (22.02.2022). М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2022.	Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Temporary methodological recommendations. Version 15 (02/22/2022). Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2022.	URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf
3	Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Мустафин И.Г., Агафонова Е.В., Шайхразиева Н.Д. Изучение молекулярно-генетических и иммунологических предикторов течения COVID-19 в группе риска «медицинские работники» // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14. №2. С. 289-298.	Reshetnikova I.D., Tyurin Y.A., Mustafin I.G., Agafonova E.V., Shaykhrazieva N.D. Assessing molecular genetic and immunological predictors of COVID-19 course in healthcare worker risk group. Russian Journal of Infection and Immunity, 2024, Vol. 14, no. 2, pp. 289-298.	doi: 10.15789/2220-7619-AMG-10359
5	Aboudounya M.M., Heads R.J. COVID-19 and Toll-like receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 may bind and activate TLR4 to increase ACE2 expression, facilitating entry		doi: 10.1155/2021/8874339

	and causing hyperinflammation. <i>Hind. Mediat. Inflamm.</i> , 2021, Vol. 2021, Article ID 8874339, 18 page.		
6	Akira S., Takeda K., Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. <i>Nat Immunol.</i> , 2001, Vol. 2, no. 8, pp. 675-80.		doi: 10.1038/90609
7	Alhabibi A.M., Hassan A.S., Abd Elbaky N.M., Eid H.A., Khalifa M.A., Wahab M.A., Althoqapy A.A., Abdou A.E., Zakaria D.M., Nassef E.M., Kasim S.A., Saleh O.I., Elsheikh A.A., Lotfy M., Sayed A. Impact of Toll-Like Receptor 2 and 9 Gene Polymorphisms on COVID-19: Susceptibility, Severity, and Thrombosis. <i>J Inflamm Res.</i> , 2023, Vol. 17, no. 16, pp. 665-675.		doi: 10.2147/JIR.S394927

8	Ali H.N., Niranji S.S., Al-Jaf S.M.A. Association of Toll-like receptor-4 polymorphism with SARS CoV-2 infection in Kurdish Population. Human Gene, 2022, Vol. 34, pp. 201115.		doi: 10.1016/j.humgen.2022.201115
9	Bagheri B., Feyzabadi Z.K., Nouri A., Azadfallah A., Ari M.M, Hemmati M., Darban M., Toosi P.A, Banihashemian S.Z. Atherosclerosis and Toll-Like Receptor4 (TLR4), Lectin-LikeOxidized Low-Density Lipoprotein-1 (LOX-1), and ProproteinConvertase Subtilisin/Kexin Type9 (PCSK9). Hindawi Mediators of Inflammation, 2024, Vol. 2024, Article ID 5830491, 13 pages.		doi: 10.1155/2024/5830491
10	Bakaros E., Voulgaridi I., Paliatsa V., Gatselis N., Germanidis G., Asvestopoulou E., Alexiou S., Botsfari E., Lygoura V.,		doi: 10.3390/v15091784

	Tsachouridou O., Mimitsoudis I., Tseroni M., Sarrou S., Mouchtouri V.A., Dadouli K., Kalala F., Metallidis S., Dalekos G., Hadjichristodoulou C., Speletas M. Innate Immune Gene Polymorphisms and COVID-19 Prognosis. <i>Viruses</i> , 2023, Vol. 15, no. 9, pp. 1784.		
11	Bavishi C., Bonow R.O., Trivedi V., Abbott J. D., Messerli F.H., Bhatt D.L. Special Article - Acute myocardial injury in patients hospitalized with COVID-19 infection: A review. <i>Progress in Cardiovascular Diseases</i> , 2020, Vol. 63, no. 5, pp. 682-689.		doi: 10.1016/j.pcad.2020.05.013
12	Brandão S.C.S., de Ramos J.O.X., Dompieri L.T., Godoi E.T.A.M., Figueiredo J.L., Sarinho E.S.C., Chelvanambi S., Aikawa M. Is Toll-like receptor 4 involved in the severity of COVID-19 pathology in patients		doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.09.002

	with cardiometabolic comorbidities? Cytokine Growth Factor Rev., 2021, Vol. 58, pp. 102-110.		
13	Chen R., Gu N., Gao Y., Cen W. TLR4 Asp299Gly (rs4986790) polymorphism and coronary artery disease: a meta-analysis. Peer J., 2015, 3:e1412.		doi: 10.7717/peerj.1412.
14	Choudhury A., Mukherjee S. In Silico Studies on the Comparative Characterization of the Interactions of SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein with ACE-2 Receptor Homologs and Human TLRs. J. Med. Virol., 2020, Vol. 92, pp. 2105–2113.		doi: 10.1002/jmv.25987
15	Duan T., Du Y., Xing C., Wang H.Y., Wang R.-F. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. Frontiers in Immunology, 2022, Vol 13, pp. 812774.		doi: 10.3389/fimmu.2022.81277 4

16	Flores-Gonzalez J., Chavez-Galan L., Falfán-Valencia R., Roldán I.B., Fricke-Galindo I., Veronica-Aguilar A., Martínez-Morales A., Hernández-Zenteno R.J., Guzmán-Guzmán I.P., Pérez-Rubio G. Variant rs4986790 of toll-like receptor 4 affects the signaling and induces cell dysfunction in patients with severe COVID-19. <i>Int J Infect Dis.</i> , 2024, Vol. 138, pp. 102-109.		doi: 10.1016/j.ijid.2023.11.032
17	Fore F., Indriputri C., Mamutse J., Nugraha J. TLR10 and its unique antiinflammatory properties and potential use as a target in therapeutics. <i>Immune Netw.</i> , 2020, Vol. 20, no. 3, pp. e21.		doi: 10.4110/in.2020.20.e21
18	Hold G.L., Berry S., Saunders K.A., Drew J., Mayer C., Brookes H., Gay N.J., El-Omar E.M., Bryant C.E. The TLR4 D299G and		doi: 10.1371/journal.pone.0111460

	T399I SNPs are constitutively active to up-regulate expression of trif-dependent genes. PLoS One, 2014, Vol .9, Article e111460.		
19	Hua Z., Hou B. TLR Signaling in B-Cell Development and Activation. Cell Mol Immunol., 2013, Vol. 10, no. 2, pp. 103–106.		doi: 10.1038/cmi.2012.6118
20	Kemerley A., Gupta A., Thirunavukkarasu M., Maloney M., Burgwardt S., Maulik N. COVID-19 Associated Cardiovascular Disease - Risks, Prevention and Management: Heart at Risk Due to COVID-19. Review. Curr. Issues Mol. Biol., 2024, Vol. 46, no. 3, pp. 1904-1920.		doi: 10.3390/cimb46030124
21	Kiechl S., Lorenz E., Reindl M., Wiedermann C. J., Oberhollenzer F., Bonora E., Willeit J., Schwartz D.A. Toll-like Receptor 4 Polymorphisms and		doi: 10.1056/NEJMoa012673

	Atherogenesis. N Engl J Med., 2002, Vol. 347, no. 3, pp. 185-192.		
22	Lester S.N., Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. J Mol Biol., 2014, Vol. 426, no. 6, pp. 1246-1264.		doi: 10.1016/j.jmb.2013.11.024
23	McClure R., Massari P. TLR-Dependent Human Mucosal Epithelial Cell Responses to Microbial Pathogens. Front Immunol, 2014, Vol. 5, pp. 386.		doi: 10.3389/fimmu.2014.00386
24	Mukherjee S., Bayry J. The Yin and Yang of TLR4 in COVID-19. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2024, Vol. 24, pp. 1359-6101.		doi: 10.1016/j.cytogfr.2024.10.001
25	Ntchana A., Shrestha S., Pippin M. Cardiovascular Complications of COVID-19: A Scoping Review of Evidence. Cureus. 2023, Vol. 15, no. 11, pp. e48275.		doi: 10.7759/cureus.48275

26	Sharma S., Garg I., Ashraf M.Z. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovascular diseases. <i>Vascul Pharmacol.</i> , 2016, Vol. 87, pp. 30-37.		doi: 10.1016/j.vph.2016.10.008
27	Sutmuller R.P.M., Morgan M.E., Netea M.G., Grauer O., Adema G.J. Toll-Like Receptors on Regulatory T Cells: Expanding Immune Regulation. <i>Trends Immunol.</i> , 2006, Vol. 27, no. 8, pp. 387-93.		doi: 10.1016/j.it.2006.06.005
28	Taha S.I., Shata A.K., Baioumy S.A., Fouad S.H., Anis S.G., Mossad I.M., Moustafa N.M., Abdou D.M., Youssef M.K. Toll-Like Receptor 4 Polymorphisms (896A/G and 1196C/T) as an Indicator of COVID-19 Severity in a Convenience Sample of Egyptian Patients. <i>J Inflamm Res.</i> , 2021, Vol. 14, pp. 6293-6303.		doi: 10.2147/JIR.S343246

29	Taha S.I., Shata A.K., El-Sehsah E.M., Mohamed M.F., Moustafa N.M., Youssef M.K. Comparison of COVID-19 characteristics in Egyptian patients according to their Toll-Like Receptor-4 (Asp299Gly) polymorphism. <i>Infez Med.</i> , 2022, Vol. 30, pp. 96–103.		doi: 10.53854/liim-3001-11
30	Tapping R.I., Omueti K.O., Johnson C.M. Genetic polymorphisms within the human Toll-like receptor 2 subfamily. <i>Biochem. Soc. Trans. journal.</i> , 2007, Vol. 35, no. Pt 6, pp. 1445-1448.		doi: 10.1042/BST0351445
31	Vidal-Perez R., Brandão M., Pazdernik M., Kresoja K.P., Carpenito M., Maeda S., Casado-Arroyo R., Muscoli S., Pöss J., Fontes-Carvalho R., Vazquez-Rodriguez J.M. Cardiovascular disease and COVID-19, a deadly combination: A review about direct		doi: 10.12998/wjcc.v10.i27.955 6

	and indirect impact of a pandemic. World J Clin Cases., 2022, Vol. 10, no. 27, pp. 9556-9572.		
32	Xie X. , Shi X., Liu M. The Roles of TLR Gene Polymorphisms in Atherosclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of 35,317 Subjects. Scand J Immunol., 2017, Vol. 86, no. 1, pp. 50-58.		doi: 10.1111/sji.12560
33	Zacher C., Schönfelder K., Rohn H., Siffert W., Möhlendick B. The single nucleotide polymorphism rs4986790 (c.896A>G) in the gene TLR4 as a protective factor in corona virus disease 2019 (COVID-19). Front Immunol., 2024, Vol. 15, pp. 1355193.		doi: 10.3389/fimmu.2024.13551 93
34	Zhang K., Zhang L., Zhou B., Wang Y., Song Y., Rao L., Zhang L. Lack of association between TLR4 Asp299Gly polymorphism and atherosclerosis: evidence from meta-		doi: 10.1016/j.thromres.2012.07. 008

	analysis. <i>Thrombosis Research</i> , 2012, Vol, 130, no. 4, pp. e203-e208.		
35	Zhang Y., Liu J., Wang C., Liu J., Lu W. Toll-Like receptors gene polymorphisms in autoimmune disease. <i>Front. Immunol.</i> , 2021, Vol. 12, pp. 672346.		doi: 10.3389/fimmu.2021.672346
36	Zhao Y., Kuang M., Li J., Zhu L., Jia Z., Guo X., Hu Y., Kong J., Yin H., Wang X., You F. Publisher Correction: SARS-CoV-2 Spike Protein Interacts with and Activates TLR4. <i>Cell Res.</i> , 2021, Vol. 31, pp. 825.		doi: 10.1038/s41422-021-00501-0
37	Zheng M., Karki R., Williams E.P., Yang D., Fitzpatrick E., Vogel P., Jonsson C.B., Kanneganti T.D. TLR2 Senses the SARS-CoV-2 Envelope Protein to Produce Inflammatory Cytokines. <i>Nat. Immunol.</i> , 2021, Vol. 22, pp. 829–838.		doi: 10.1038/s41590-021-00937-x

38	Ziakas P.D., Prodromou M.L., Khoury J., Zintzaras E., Mylonakis E. The role of TLR4 896 A>G and 1196 C>T in susceptibility to infections: a review and meta-analysis of genetic association studies. PLoS One., 2013, Vol. 8, no. 11, pp. e81047.		doi: 10.1371/journal.pone.0081047
----	---	--	--------------------------------------