

С.Э. Баландина¹, С.В. Беляева^{1,2}, А.А. Крохин², Д.С. Сташкевич¹,
Д.Э. Мякотина¹, Т.А. Сулова^{1,2}

ГАПЛОТИПЫ ГЕНА TLR-9 У БОЛЬНЫХ COVID-19 РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»,
г. Челябинск, Российская Федерация;

²ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови»,
г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. В исследовании была проанализирована возможная ассоциация между генетическими вариантами гена TLR-9 и тяжестью течения COVID-19. **Целью исследования** явилась оценка распределения частоты встречаемости двухлокусных гаплотипов гена TLR-9(-1237T/C)~TLR-9(+2848G/A) у больных COVID-19 русских Челябинской области. **Материалы и методы.** В исследование были включены две группы русских Челябинской области: больные COVID-19 (121 человек) и условно-здоровые доноры (102 человека). Полиморфные варианты G+2848A в гене TLR-9 были определены методом полимеразной цепной реакции. С целью определения ассоциации между TLR-9 (+2848)*G/A и тяжестью течения COVID-19 больные были разделены на 3 подгруппы по степени тяжести течения заболевания (тяжелая, средняя и легкая формы). **Результаты исследования.** В работе определены генетические факторы предрасположенности к COVID-19. У пациентов с COVID-19 наблюдалось достоверное увеличение частоты встречаемости генотипа TLR-9 (+2848)*G/A ($\chi^2=4,442$; $p=0,036$; OR=1,799; CI=1,040-1,648) в сравнении с контрольной группой. Также установлено достоверное повышение частоты встречаемости гаплотипа TLR-9(-1237*C)~TLR-9(+2848*A) у больных COVID-19 в сравнении с контрольной группой ($\chi^2=3,990$; $p=0,046$; OR=1,810; CI=1,005-3,260). **Выводы.** У пациентов с COVID-19 наблюдалось статистически значимое увеличение частоты встречаемости генотипа TLR-9(+2848)*G/A в сравнении с контрольной группой. У пациентов с COVID-19, в сравнении с контрольной группой, выявлено статистически значимое увеличение частоты встречаемости гаплотипа TLR-9(-1237*C)~TLR-9(+2848*A). Исследование генетических ассоциаций предрасположенности к COVID-19 в изучении SNPs открывает широкие перспективы для разработки вакцин и лекарств, предупреждающих развитие инфекции с перспективой полного исключения ее распространения.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, биомаркеры COVID-19, TLR-9 (-1237)*T/C, TLR-9 (+2848)*G/A

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Баландина Светлана Эдуардовна

lana.balandina.97@mail.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Баландина С.Э., Беляева С.В., Крохин А.А., Сташкевич Д.С., Мякотина Д.Э., Сулова Т.А. Гаплотипы гена TLR-9 у больных COVID-19 русских Челябинской области. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 3, с. 318–326, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-318-326

Введение

Окончание пандемии COVID-19 было объявлено больше года назад, однако число случаев заболевания и смертей от новой коронавирусной инфекции увеличивается с каждым днем. По состоянию на 21 июля 2024 года во всем мире за время пандемии было зарегистрировано более 775 миллионов

подтвержденных случаев и более 7 миллионов смертей [1]. На территории Российской Федерации эти показатели достигают следующих значений: более 23 миллионов подтвержденных случаев заражения и около 400 тысяч смертей [2]. В Челябинской области на сегодняшний день зарегистрировано почти 180 тысяч случаев выявления инфекции и 6,5 тысячи смертей от COVID-19 [2].

Случаи заражения новой коронавирусной инфекцией растут, в связи с чем сейчас преследуется цель: разработка рекомендаций по созданию мер защиты здоровья и предотвращению распространения вспышек COVID-19, продолжается поиск биомаркеров COVID-19. Одним из возможных критериев является эндосомальный Toll-подобный рецептор 9 (TLR-9), выполняющий важную роль в обеспечении врожденного иммунного ответа. Функциональной особенностью рецептора является способность распознавания метилированных CpG-динуклеотидов, которые часто встречаются в бактериальной и вирусной ДНК, реже в РНК и сравнительно редко – в геномной ДНК человека. Поскольку генетический материал вируса SARS-CoV-2, вызывающего COVID-19, содержит CpG-мотивы, есть вероятность, что он может активировать TLR-9 непосредственно в эндотелиальных клетках. CpG-динуклеотиды излишне представлены в открытой рамке считывания (E-ORF, open reading frame) и ORF-10 SARS-CoV-2. Одновременно с этим известны примеры синергически действующих триггеров TLR-9. К таковым относятся: CpG-мотивы совместно инфицирующих патогенов, вдыхаемые биоаэрозоли, органическая пыль и сигаретный дым [3]. Предполагается, что чрезмерная активация TLR-9 обуславливает гипервоспаление и тромботические осложнения, наблюдаемые при COVID-19, поскольку из всех TLR, именно TLR-9 наиболее высоко экспрессируется на тромбоцитах [3].

Существует несколько путей активации тромбоцитов, однако, из работы G. Bezemer с соавт. (2021) известно, что путь через TLR-9 является связующим звеном между окислительным стрессом, инфекцией и активацией тромбоцитов. Также выявлено, что SARS-CoV-2 отвечает за высвобождение митохондриальной ДНК (мтДНК) вследствие утери функциональной активности митохондрий. Таким образом, мтДНК и, возможно, РНК SARS-CoV-2 могут служить молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждениями (DAMP, damage-associated molecular patterns) и запускать TLR-9 [4].

Также в работе G. Bezemer с соавт. (2021) было установлено, что в усилении экспрессии TLR-9 участвует состояние здоровья хозяина (наличие хронических заболеваний, диета с повышенным содержанием жиров, ожирение и курение), способствующие опосредованному TLR-9 воспалению, что потенциально может объяснить различия в тяжести течения заболевания [3].

Различные SNPs (single nucleotide polymorphism) в TLR хозяина могут нарушать регуляцию секреции цитокинов и хемокинов, приводя к нарушению защиты от инфекции, что проявляется повышенной восприимчивостью, хронизацией процесса или тяжестью течения. Понимание того, как генетические полиморфизмы влияют на клинический исход и восприимчивость к инфекциям, может помочь в разработке более эффективных методов их лечения.

Ген TLR-9 находится на коротком плече третьей хромосомы, в области 3p21.3 и состоит из двух экзонов [5]. Было обнаружено несколько полиморфных сайтов в TLR-9, способных оказывать влияние на различные аспекты вирусных инфекций [6], в частности, вариант +2848 G/A (rs352140), расположенный в экзоне 2. Хотя этот SNP не оказывает прямого влияния на структуру белка, он связан с другим SNP в промоторной области гена, -1237 T/C (rs5743836). Эти полиморфные участки вместе образуют гаплотип, который способствует усиленному связыванию транскрипционного фактора NFκB и, как следствие, увеличивает экспрессию TLR-9 [7].

Цель настоящего исследования – произвести оценку распределения частот встречаемости двух-локусных гаплотипов гена TLR-9(-1237T/C)~TLR-9(+2848G/A) у больных COVID-19 русских Челябинской области.

Материалы и методы

Группа больных была сформирована из пациентов инфекционных отделений больниц города Челябинска русской популяции (121 человек) с подтвержденным COVID-19 и отсутствием сопутствующих заболеваний. Больные обследовались в эпидемический период с декабря 2019 года по апрель 2021 года. Обнаружение РНК вируса SARS-CoV-2 было проведено в образцах носоглоточных мазков пациентов при проведении полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (реактивы АО «Вектор-Бест», Новосибирск).

Больные, согласно вариативным рекомендациям ВОЗ (январь 2023 года) [8], на основе рентгенологической картины и клинических признаков разделены на 3 подгруппы по степени тяжести течения COVID-19: больные с тяжелой, средней и легкой формами. В подгруппу лиц с тяжелой формой вошли 45 пациентов с наличием двусторонней пневмонии высокой степени тяжести (поражение легких 1-2 степени, подтвержденное компьютерной томографией). В подгруппу лиц со средней формой вошли 54 пациента с двусторонней пневмонией средней степени тяжести. В подгруппу лиц с легкой формой вошли 22 пациента с антителами (без вакцинации), признаками легкого течения заболевания (субфебрильная температура, кашель и слабость), а также отсутствием признаков тяжелой и средней форм.

Контрольная группа была сформирована из условно здоровых доноров Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Челябинская областная станция переливания крови» (ГБУЗ «ЧОСПК») русской популяции (102 человека) без прививок, антител к SARS-CoV-2 и не состоящие в Федеральном регистре лиц, больных COVID-19. Этническая принадлежность исследуемых групп определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения.

Выделение ДНК из исследуемых образцов проводили с использованием реагентов PROTRANS DNA Box 500 (Protrans, Германия) согласно инструкции производителя. Определение SNP G+2848A в гене TLR-9 проводили с помощью аллель-специфичной ПЦР (реактивы ООО НПФ «Литех», Москва). Полученные результаты интерпретировали с помощью электрофоретической детекции в 3%-ом агарозном геле.

Ассоциацию между полиморфными позициями исследуемого гена и тяжестью течения COVID-19 оценивали с использованием критерия отношения шансов (OR) и соответствующими 95% доверительными интервалами (CI) при сравнении случаев болезни с группой контроля. Критерий χ^2 определяли с помощью анализа четырехпольной таблицы в онлайн-калькуляторе «Медицинская статистика» [9]. При $p < 0,05$ полученные результаты считали статистически значимыми.

Частота гаплотипов (HF) и величины коэффициента неравновесного сцепления (D , D' , χ^2) аллелей в локусах были рассчитаны с помощью программы Arlequin, v.3.5.

Результаты и обсуждение

Ранее нами был исследован полиморфизм TLR-9 (-1237)*T/C у больных COVID-19 русских Челябинской области [10]. Учитывая, что, по данным литературы, ген находится в неравновесном сцеплении с TLR-9 (+2848)*G/A, образуя гаплотип, а также регуляторную роль полиморфизма TLR-9 (+2848)*G/A, то в настоящем исследовании мы рассмотрели распределение частоты TLR-9 (+2848)*G/A, а также его гаплотипы с TLR-9 (-1237)*T/C.

В таблице 1 представлены результаты сравнения частот аллелей и генотипов гена TLR-9 (+2848)*G/A в двух исследованных группах. Было выявлено, что у больных наблюдается тенденция к увеличению частоты генотипа TLR-9 (+2848)*G/A ($\chi^2=4,442$; $p=0,036$; $OR=1,799$; $CI=1,040-1,648$). Из литературных данных известно, что данный генотип ассоциируется с увеличением транскрипционной активности гена TLR-9, в результате чего повышается синтез медиаторов воспаления, что может привести к развитию тяжелой формы COVID-19 [7].

COVID-19 может иметь худший исход у людей, которые имеют высокую экспрессию функционально активного TLR-9, обусловленную наличием сопутствующих заболеваний, либо генетической предрасположенностью [3]. В связи с этим, далее был проведен анализ частот аллелей и генотипов гена TLR-9 (+2848)*G/A в подгруппах больных, заболевание которых протекало с разной степенью тяжести (Рис.1). Установлена тенденция к снижению частоты генотипа TLR-9 (+2848)*G/G в подгруппе больных с тяжелой формой течения COVID-19 в сравнении с больными со средней формой ($\chi^2=3,0231$; $p=0,083$; $OR=0,314$; $CI=0,081-1,222$), что позволяет рассматривать данный генотип как потенциальный фактор устойчивости к развитию тяжелой формы заболевания.

Поскольку полиморфные сайты TLR-9 (-1237)*T/C и TLR-9 (+2848)*G/A являются важными для функционирования гена TLR-9, а их комбинации могут влиять на активность TLR-9, мы предполагаем, что совместное наследование SNPs в гене TLR-9 оказывает влияние на иммунный ответ при COVID-19. Поэтому далее были проанализированы частоты встречаемости и параметры сцепления двухлокусных гаплотипов TLR-9(-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A в обеих группах исследования (Табл. 2-3). Было обнаружено, что определённые варианты генов TLR-9, а именно гаплотипы с со-

четанием TLR-9(-1237*С)~(+2848*А) и TLR-9(-1237*Т)~(+2848*G), имеют положительную корреляцию в группе больных COVID-19 и контрольной. Показатель неравновесного сцепления в группе больных у двух этих гаплотипов составил 0,504 ($\chi^2=13,127$; $p=0,000$), в контрольной группе – 0,571 ($\chi^2=8,353$; $p=0,004$). Данные указывают на увеличение вероятности наследования аллелей TLR-9(-1237)*С с TLR-9(+2848)*А и TLR-9(-1237)*Т с TLR-9(+2848)*G одновременно.

Таблица 1
Аллели и генотипы гена TLR-9 (+2848)*G/A в группе больных COVID-19 и условно-здоровых лиц русской популяции Челябинской области

Table 1
Alleles and genotypes of the TLR-9 (+2848)*G/A gene in the group of COVID-19 patients and conditionally healthy individuals of the Russian population of the Chelyabinsk region

Аллели/Генотипы Alleles/ Genotypes TLR-9 (+2848)*G/A	Больные COVID-19, % COVID-19 patients, % n=121	Контрольная группа, % Control group, % n=102	χ^2	p-value	OR	CI	
G	37,54	42,31	1,234	0,267	0,820	0,577	1,164
A	62,46	57,69	1,234	0,267	1,220	0,859	1,733
G/G	12,7	21,6	3,068	0,080	0,530	0,258	1,086
G/A	67,8	53,9	4,442	0,036	1,799	1,040	1,648
A/A	19,4	24,5	0,808	0,369	0,746	0,393	1,416

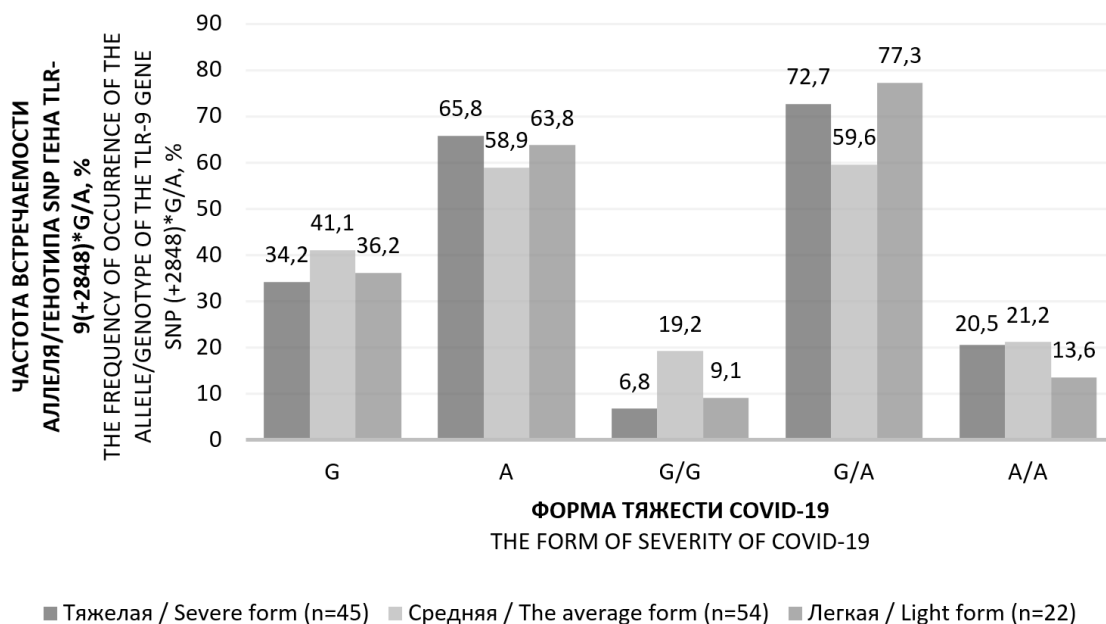


Рисунок 1. Аллели и генотипы гена TLR-9 (+2848)*G/A в группах больных COVID-19 русских Челябинской области с разными формами тяжести

Figure 1. Alleles and genotypes of the TLR-9 (+2848)*G/A gene in groups of COVID-19 Russian patients in the Chelyabinsk region with different forms of severity

Таблица 2

Частоты встречаемости и параметры сцепления 2-х локусных гаплотипов
TLR-9 (-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A у больных COVID-19

Table 2

Frequency of occurrence and coupling parameters of 2 locus haplotypes
TLR-9 (-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A in patients with COVID-19

TLR-9(-1237)*T/C~ TLR-9(+2848)*G/A	% N=121	Частота Frequency	s.d.	D	D/	X ² , p (D/)
-1237*T+2848*A	38,20	0,381	0,032	-0,0473	-0,5038	13,1272 (0,0003)
-1237*C+2848*A	15,70	0,157	0,024	0,0473	0,5038	13,1272 (0,0003)
-1237*T+2848*G	41,50	0,415	0,032	0,0473	0,5038	13,1272 (0,0003)
-1237*C+2848*G	4,60	0,046	0,014	-0,0473	-0,5038	13,1272 (0,0003)

Таблица 3

Частоты встречаемости и параметры сцепления 2-х локусных гаплотипов
TLR-9 (-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A в контрольной группе

Table 3

Frequency of occurrence and coupling parameters of 2 locus haplotypes
TLR-9 (-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A in the control group

TLR-9(-1237)*T/C~ TLR-9(+2848)*G/A	% N=102	Частота Frequency	s.d.	D	D/	X ² , p (D/)
-1237*T+2848*A	42,16	0,422	0,035	-0,0326	-0,5707	8,3530 (0,0039)
-1237*C+2848*A	9,314	0,093	0,020	0,0326	0,5707	8,3530 (0,0039)
-1237*T+2848*G	46,08	0,461	0,035	0,0326	0,5707	8,3530 (0,0039)
-1237*C+2848*G	2,451	0,024	0,011	-0,0326	-0,5707	8,3530 (0,0039)

На следующем этапе был осуществлён сравнительный анализ частоты встречаемости двухлокусных гаплотипов TLR-9(-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A в обеих исследуемых группах (Табл. 4). Гаплотип TLR-9(-1237*C)~TLR-9(+2848*A) встречался с частотой 15,7% в группе больных и с частотой 9,3% в контрольной группе ($\chi^2=3,990$; $p=0,046$; OR=1,810; CI=1,005-3,260).

Таблица 4

Частоты встречаемости и параметры сцепления 2-х локусных гаплотипов
TLR-9(-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A в контрольной группе в сравнении больными COVID-19

Table 4

Frequency of occurrence and coupling parameters of 2 locus haplotypes
TLR-9(-1237)*T/C~TLR-9(+2848)*G/A in the control group compared with patients with COVID-19

TLR-9(-1237)*T/C~ TLR-9(+2848)*G/A	Частота гаплотипа Haplotype frequency		Достоверность, X ² , p Reliability, X ² , p	OR	CI	
	Больные COVID-19 COVID-19 patients n=121	Контрольная группа Control group n=102				
-1237*C+2848*A	0,157	0,093	3,990 (0,046)	1,810	1,005	3,260
-1237*T+2848*G	0,415	0,461	0,746 (0,388)	0,930	0,633	1,366
-1237*T+2848*A	0,381	0,422	0,737 (0,447)	0,846	0,577	1,240
-1237*C+2848*G	0,046	0,024	0,960 (0,328)	1,946	0,665	5,697

Таким образом, выявленный гаплотип TLR-9(-1237*C)~TLR-9(+2848*A) может служить биомаркером предрасположенности к COVID-19 в русской популяции. В него входит аллель TLR-9 (-1237)*C, который с большей частотой встречался в группе больных в сравнении с контрольной ($\chi^2=5,55$; $p=0,019$) [10]. Из литературы известно, что рассматриваемые аллельные варианты увеличивают транскрипционную активность гена TLR-9 и могут изменять реакцию на патогены, тем самым

определяя повышенную восприимчивость к COVID-19 [11].

Выводы

1. У пациентов с COVID-19 наблюдалось статистически значимое увеличение частоты встречаемости генотипа TLR-9(+2848)*G/A в сравнении с контрольной группой.
2. У пациентов с COVID-19, в сравнении с контрольной группой, выявлено статистически значимое увеличение частоты встречаемости гаплотипа TLR-9(-1237*С)~TLR-9(+2848*А).
3. Исследование генетических ассоциаций предрасположенности к COVID-19 в изучении SNPs открывает широкие перспективы для разработки вакцин и лекарств, предупреждающих развитие инфекции с перспективой полного исключения ее распространения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения: [сайт]. Женева, 2024; <https://www.who.int/ru> (дата обращения: 23.07.2024).
2. Коронавирус-монитор. Интерактивная карта распространения и статистика COVID-19: [сайт]. 2024; <https://coronavirus-monitor.info/> (дата обращения: 23.07.2024).
3. Bezemer G.F.G., Garssen J. TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. *Front Pharmacol.* 2021; 11:601685. doi:10.3389/fphar.2020.601685.
4. Lee N., Ko R., Lee S. Y. Differential Expression Patterns of Toll-like Receptors in COVID-19 Patients. *Frontiers in Bioscience.* 2023; 28(11). doi: 10.31083/j.fbl2811307.
5. Del Valle D.M., Kim-Schulze S., Huang H.H., Beckmann N.D., Nirenberg S., Wang B., Lavin Y., Swartz T.H., Madduri D., Stock A., Marron T.U., Xie H., Patel M., Tuballes K., Van Oekelen O., Rahman A., Kovatch P., Aberg J.A., Schadt E., Jagannath S., Mazumdar M., Charney A.W., Firpo-Betancourt A., Mendu D.R., Jhang J., Reich D., Sigel K., Cordon-Cardo C., Feldmann M., Parekh S., Merad M., Gnjjatic S. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med.* 2020; 26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9.
6. Mandal A., Kumar M., Kumar A., Sen A., Das P., Das S. TLR4 and TLR9 polymorphism: Probable role in susceptibility among the population of Bihar for Indian visceral leishmaniasis. *Innate Immunity.* 2021; 27(6); 493–500. doi:10.1177/1753425920965658.
7. Kulmann-Leal B., Ellwanger J. H., Valverde-Villegas J. M., Simon D., Marangon C. G., Mattevi V. S. et al. TLR9 2848 G/A Gene Polymorphism in HCV+, HIV+, and HCV+/HIV+ Individuals. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2022; 26(5); 263-269. doi: 10.1089/gtmb.2021.0288.
8. Клиническое ведение случаев COVID-19: вариативные рекомендации, 13 января 2023 года [Clinical management of COVID-19: living guideline, 13 January 2023]. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2023; (WHO/2019-nCoV/Clinical/2023.1). Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
9. Медицинская статистика: [сайт]. Москва, 2013; <https://medstatistic.ru> (дата обращения: 20.05.2024).
10. Беляева С.В., Сулова Т.А., Сташкевич Д.С., Баландина С.Э., Мякотина Д.Э., Милонченко М.С. Полиморфизм TLR-9 (-1237)*Т/С у больных COVID-19 русских Челябинской области. *Российский иммунологический журнал.* 2023; 26(3); 217-222. doi:10.46235/1028-7221-9904-ТPI.
11. Costa T.J., Potje S.R., Fraga-Silva T.F.C., da Silva-Neto J.A., Barros P.R., Rodrigues D., Machado M.R., Martins R.B., Santos-Eichler R.A., Benatti M.N., de Sá K.S.G., Almado C.E.L., Castro Í.A., Pontelli M.C., Serra L., Carneiro F.S., Becari C., Louzada-Junior P., Oliveira R.D.R., Zamboni D.S., Arruda E., Auxiliadora-Martins M., Giachini F.R.C., Bonato V.L.D., Zachara N.E., Bomfim G.F., Tostes R.C. Mitochondrial DNA and TLR9 activation contribute to SARS-CoV-2-induced endothelial cell damage. *Vascul Pharmacol.* 2022; 142:106946. doi:10.1016/j.vph.2021.106946.

Авторы

Баландина Светлана Эдуардовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)

Ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета

Челябинск, Российская Федерация
lana.balandina.97@mail.ru

Беляева Светлана Валерьевна
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная станция переливания крови» (ГБУЗ «ЧОСПК»)
К.б.н., биолог лаборатории диагностики гемотрансмиссивных инфекций
Челябинск, Российская Федерация
shshvetlana@yandex.ru

Крохин Анатолий Анатольевич
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная станция переливания крови» (ГБУЗ «ЧОСПК»)
Главный врач
Челябинск, Российская Федерация
krohin@ospk.ru

Сташкевич Дарья Сергеевна
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
К.б.н., доцент, декан биологического факультета
Челябинск, Российская Федерация
stashkevich_dary@mail.ru

Мякотина Дарья Эдуардовна
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)
Магистрант биологического факультета
Челябинск, Российская Федерация
darya.myakotina@csu.ru

Суслова Татьяна Александровна
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная станция переливания крови» (ГБУЗ «ЧОСПК»)
К.м.н., доцент, врач КЛД лаборатории иммунологических исследований
Челябинск, Российская Федерация
tatiana.suslova.hla@gmail.com

*S.E. Balandina¹, S.V. Belyaeva^{1,2}, A.A. Krohin², D.S. Stashkevich¹,
D.E. Myakotina¹, T.A. Suslova^{1,2}*

TLR-9 GENE HAPLOTYPES IN COVID-19 RUSSIAN PATIENTS OF THE CHELYABINSK REGION

¹Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;

²Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The study analyzed a possible association between genetic variants of the TLR-9 gene and the pathogenesis of COVID-19. *The aim of the study* was to assess the frequency distribution of two-locus haplotypes of the TLR-9(-1237T/C)~TLR-9(+2848G/A) gene in COVID-19 Russian patients of the Chelyabinsk region. *Materials and methods.* Two groups of Russians from the Chelyabinsk region were included in the study: COVID-19 patients (121 people) and conditionally healthy donors (102 people).

Polymorphic variants of G+2848A in the TLR-9 gene were determined by polymerase chain reaction. In order to determine the association between TLR-9 (+2848)*G/A and the severity of COVID-19, patients were divided into 3 subgroups according to the severity of the disease (severe, moderate and mild forms). The results of the study. The paper identifies genetic factors of predisposition to the development of COVID-19. In patients with COVID-19, there was a significant increase in the incidence of the TLR-9 genotype (+2848)*G/A ($\chi^2=4.442$; $p=0.036$; OR=1.799; CI=1.040-1.648) compared with the control group. There was also a significant increase in the frequency of occurrence of the TLR-9 haplotype (-1237*C)~TLR-9(+2848*A) in patients with COVID-19 compared with the control group ($\chi^2=3.990$; $p=0.046$; OR=1.810; CI=1.005-3.260). **Conclusions.** In patients with COVID-19, there was a statistically significant increase in the incidence of the TLR9(+2848)*G/A genotype compared with the control group. In patients with COVID-19, in comparison with the control group, a statistically significant increase in the frequency of occurrence of the TLR-9 haplotype (-1237*C) was revealed~TLR-9(+2848*A). The study of genetic associations of predisposition to COVID-19 in the study of SNPs opens up broad prospects for the development of vaccines and drugs that prevent the development of infection with the prospect of completely eliminating its spread.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, biomarkers of COVID-19, TLR-9 (-1237)*T/C, TLR-9 (+2848)*G/A

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Svetlana E. Balandina

lana.balandina.97@mail.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Balandina S.E., Belyaeva S.V., Krohin A.A., Stashkevich D.S., Myakotina D.E., Suslova T.A. TLR-9 gene haplotypes in COVID-19 russian patients of the chelyabinsk region. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 3, pp. 318–326. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-318-326 (In Russ)

REFERENCES

1. World Health Organization:[website]. Geneva, 2024 <https://www.who.int/ru> (date of application: 23.07.2024).
2. Coronavirus monitor. Interactive map of the spread and statistics of COVID-19 [Koronavirus-monitor. Interaktivnaja karta rasprostraneniya i statistika COVID-19]:[website]. 2024; (In Russ). <https://coronavirus-monitor.info/> (date of application: 23.07.2024).
3. Bezemer G.F.G., Garssen J. TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. *Front Pharmacol.* 2021; 11:601685. doi:10.3389/fphar.2020.601685.
4. Lee N., Ko R., Lee S. Y. Differential Expression Patterns of Toll-like Receptors in COVID-19 Patients. *Frontiers in Bioscience.* 2023; 28(11). doi: 10.31083/j.fbl2811307.
5. Del Valle D.M., Kim-Schulze S., Huang H.H., Beckmann N.D., Nirenberg S., Wang B., Lavin Y., Swartz T.H., Madduri D., Stock A., Marron T.U., Xie H., Patel M., Tuballes K., Van Oekelen O., Rahman A., Kovatch P., Aberg J.A., Schadt E., Jagannath S., Mazumdar M., Charney A.W., Firpo-Betancourt A., Mendu D.R., Jhang J., Reich D., Sigel K., Cordon-Cardo C., Feldmann M., Parekh S., Merad M., Gnjatic S. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med.* 2020; 26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9.
6. Mandal A., Kumar M., Kumar A., Sen A., Das P., Das S. TLR4 and TLR9 polymorphism: Probable role in susceptibility among the population of Bihar for Indian visceral leishmaniasis. *Innate Immunity.* 2021; 27(6); 493–500. doi:10.1177/1753425920965658.
7. Kulmann-Leal B., Ellwanger J. H., Valverde-Villegas J. M., Simon D., Marangon C. G., Mattevi V. S. et al. TLR9 2848 G/A Gene Polymorphism in HCV+, HIV+, and HCV+/HIV+ Individuals. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2022; 26(5); 263-269. doi: 10.1089/gtmb.2021.0288.
8. Clinical management of COVID-19: living guideline, 13 January 2023. Geneva: World Health Organization, 2023; (WHO/2019-nCoV/Clinical/2023.1). License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

9. Medical statistics [Medicinskaja statistika]: [website]. Moscow, 2013; <https://medstatistic.ru> (date of application: 05/20/2024). (In Russ).

10. Belyaeva S.V., Suslova T.A., Stashkevich D.S., Balandina S.E., Myakotina D.E., Milonchenko M.S. TLR-9 (-1237)*T/C polymorphism in Russian COVID-19 patients from the Chelyabinsk Region [TLR-9 (-1237)*T/C polymorphism in Russian COVID-19 patients from the Shelyabinsk Region]. Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal. 2023; 26(3); 217-222. (In Russ). doi: 10.46235/1028-7221-9904-TPI.

11. Costa T.J., Potje S.R., Fraga-Silva T.F.C., da Silva-Neto J.A., Barros P.R., Rodrigues D., Machado M.R., Martins R.B., Santos-Eichler R.A., Benatti M.N., de Sá K.S.G., Almado C.E.L., Castro Í.A., Pontelli M.C., Serra L., Carneiro F.S., Becari C., Louzada-Junior P., Oliveira R.D.R., Zamboni D.S., Arruda E., Auxiliadora-Martins M., Giachini F.R.C., Bonato V.L.D., Zachara N.E., Bomfim G.F., Tostes R.C. Mitochondrial DNA and TLR9 activation contribute to SARS-CoV-2-induced endothelial cell damage. Vascul Pharmacol. 2022; 142:106946. doi:10.1016/j.vph.2021.106946.

Auhtors

Svetlana E. Balandina

Chelyabinsk State University

Assistant Professor, Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology

Chelyabinsk, Russian Federation

lana.balandina.97@mail.ru

Svetlana V. Belyaeva

Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station

PhD (Biology), Biologist of the Laboratory for the diagnosis of hemotransmissible infections

Chelyabinsk, Russian Federation

shshvetlana@yandex.ru

Anatoly A. Krohin

Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station

Chief Physician

Chelyabinsk, Russian Federation

krohin@ospk.ru

Darya S. Stashkevich

Chelyabinsk State University

PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Faculty of Biology

Chelyabinsk, Russian Federation

stashkevich_dary@mail.ru

Darya E. Myakotina

Chelyabinsk State University

Master Student, Faculty of Biology

Chelyabinsk, Russian Federation

darya.myakotina@csu.ru

Tatyana A. Suslova

Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station

PhD (Medicine), Associate Professor, Doctor of the Laboratory of immunological research

Chelyabinsk, Russian Federation

tatiana.suslova.hla@gmail.com