

## Original Observation

АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ *NRF2* И *TLR9*  
ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

А. Г. Чумаченко<sup>1,3</sup>, А. Е. Мязин<sup>1,2</sup>, А. Н. Кузовлев<sup>1</sup>, А. М. Гапонов<sup>1,2</sup>,  
А. В. Тутельян<sup>2,3,4</sup>, Л. Н. Пороховник<sup>5</sup>, А. М. Голубев<sup>1</sup>, В. М. Писарев<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,  
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,  
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России,  
Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, д. 1

<sup>3</sup> Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,  
Россия, 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а

<sup>4</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России,  
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

<sup>5</sup> Медико-генетический научный центр,  
Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Allelic Variants of *NRF2* and *TLR9* Genes in Critical Illness

A. G. Chumachenko<sup>1,3</sup>, A. E. Myazin<sup>1,2</sup>, A. N. Kuzovlev<sup>1</sup>, A. M. Gaponov<sup>1,2,3</sup>,  
A. V. Tutelyan<sup>2,3,4</sup>, L. N. Porokhovnik<sup>5</sup>, A. M. Golubev<sup>1</sup>, V. M. Pisarev<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,  
25, Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

<sup>2</sup> D. Rogachev Federal scientific clinical centre of pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russia,  
1, Samora Mashela Str., GSP-7, Moscow 117997, Russia

<sup>3</sup> Central Research Institute of Epidemiology, Rospotrebnadzor,  
3a, Novogireevskaya Str., Moscow 111123, Russia

<sup>4</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Healthcare of Russia,  
8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russia

<sup>5</sup> Medical Genetics Research Center,  
1, Moskvorechye Str., Moscow 115478, Russia

**Цель исследования.** Выявить связь аллельных вариантов сайтов однонуклеотидного полиморфизма генов *NRF2* (rs6726395, 177238501A>G) и *TLR9* (rs352162, 52218953T>C) — изолированно и в комплексе — с особенностями течения критических состояний при инфекции легких.

**Материалы и методы.** Аллель-специфически генотипирована ДНК от 86 больных, перенесших хирургическое вмешательство, и онкологических больных.

**Результаты.** Обнаружено, что у больных генотипа *NRF2* 177238501A>G GG с септическим шоком повышена летальность и более высокие баллы по шкале АРАСНЕ II, чаще развивался отек легких, резистентный к лечению. У больных с комбинацией генотипов *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC реже развивался септический шок и нозокомиальная пневмония.

**Заключение.** Комбинация аллеля *NRF2* 177238501A>G в гомозиготном состоянии (GG) является неблагоприятной для течения и исхода критических состояний только в сочетании с аллелями *TLR9* 52218953T>C СТ или *TLR9* 52218953T>C ТТ у больных с септическим шоком. При этом комбинация аллелей *TLR9* 52218953T>C CC с «неблагоприятными» *NRF2* 177238501A>G GG защищает от развития септического шока и нозокомиальной пневмонии.

**Ключевые слова:** SNP; полиморфизм генов *NRF2*; транскрипционный фактор *NRF2*; толл-подобный рецептор *TLR9*; септический шок; нозокомиальная пневмония

Адрес для корреспонденции:

Владимир Писарев  
E-mail: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

Correspondence to:

Dr. Vladimir Pisarev  
E-mail: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

**Aim of the study.** To elucidate the association of allelic variants of single nucleotide polymorphism in *NRF2* (rs6726395, 177238501A>G) and *TLR9* (rs352162, 52218953T>C) genes, each gene separately and in their combination, with peculiarities of the course of critical conditions during lung infection.

**Materials and methods.** DNA from 86 post-operative patients and oncologic patients was genotyped in an allele-specific fashion using tetra-primer polymerase chain reaction followed by gel electrophoresis analysis of products.

**Results.** It has been found that septic shock patients with *NRF2* 177238501A>G GG genotype had increased mortality and higher APACHE II score and developed non-responsive edema more frequently. Patients with *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC genotype combination developed septic shock and nosocomial pneumonia more rarely.

**Conclusion.** The homozygous *NRF2* 177238501A>G (GG) allele combination is unfavorable for the course and outcome of critical conditions only in combination with *TLR9* 52218953T>C CT or *TLR9* 52218953T>C TT alleles in septic shock patients. At the same time, the combination of *TLR9* 52218953T>C CC alleles in the same patients with 'unfavorable' *NRF2* 177238501A>G GG protects against development of septic shock and nosocomial pneumonia.

**Key words:** SNP; gene polymorphism *NRF2*; *NRF2* transcription factor; toll-like receptor *TLR9*; septic shock; nosocomial pneumonia

DOI:10.15360/1813-9779-2016-4-8-23

## Введение

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP, single nucleotide polymorphisms) — одновременное существование в популяции нескольких аллельных вариантов гена, отличающихся только одним нуклеотидом. Исследование SNP широко распространено в качестве молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе к заболеваниям легких, например к острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС) [1]. В подобных исследованиях в качестве маркеров исследовались такие гены, как *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL13*, *CYP1A1*, *AhR*, *ABCB1*, *SOD2*, *GCLC*, *CAT*, *ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGF $\alpha$* , *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1* [2–7]. Исход критических состояний, сопровождающихся мультиорганной недостаточностью, зависит от цитопротекции. *NRF2* и *TLR9* участвуют в цитопротекции [8, 9]. Исходя из данных соображений, мы изучили ассоциацию SNP генов *TLR9* и *NRF2* с течением и исходом критических состояний.

Толл-подобные рецепторы — это белки, распознающие консервативные паттерны микробных структур. Один из них, толл-подобный рецептор 9 (*TLR9*) — цитоплазматический белок, обеспечивающий функционирование врожденного иммунитета. Распознавая GC-обогащенные участки ДНК, *TLR9* запускает сигнальные пути, приводящие к продукции сигнального белка Stat3, провоспалительных цитокинов, таких, как интерфероны, ФНО $\alpha$  (фактор некроза опухоли альфа) и интерлейкины: IL-12, IL-1 $\beta$ , IL-6 и др. Один из вариантов SNP rs352162 (52218953T>C) гена *TLR9*, а именно *TLR9* 52218953T>C CC, ассоциирован с увеличенной продукцией лейкоцитами провоспалительного цитокина ФНО $\alpha$  в ответ на GC-богатую бактериальную ДНК. Имеются

## Introduction

Single nucleotide polymorphisms (SNP) is a concurrent presence of several allelic variants of a gene in the population, which differ in one nucleotide only. The SNP examination is widely spread as a tool to obtain molecular genetic markers of susceptibility to various diseases including pulmonary diseases, for example, acute respiratory distress syndrome (ARDS) [1]. As markers, those studies used to involve such genes as *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *IL10*, *IL13*, *CYP1A1*, *AhR*, *ABCB1*, *SOD2*, *GCLC*, *CAT*, *ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGF $\alpha$* , *MTHFR*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1* [2–7]. The outcome of critical conditions accompanied with multi-organ failure (MOF) depends on cytoprotection. *NRF2* and *TLR9* are involved in cytoprotection [8, 9]. Based on these considerations, we have studied the association of SNPs in *TLR9* and *NRF2* genes with the course and outcome of critical illness.

Toll-like receptors *TLR9* are proteins recognizing conservative patterns of microbial structures. One of them, toll-like receptor 9 (*TLR9*) is a cytoplasmic protein supporting innate immunity functioning. By recognizing GC-enriched DNA elements, *TLR9* triggers signal paths resulting in production of a signaling protein Stat3, proinflammatory cytokines such as interferons, TNF (tumor necrosis factor) and interleukins: IL-12, IL-1 $\beta$ , IL-6 etc. One of SNP variants rs352162 of *TLR9* gene, namely, *TLR9* (52218953T>C) CC is associated with increased production of pro-inflammatory cytokine TNF in response to GC-rich bacterial DNA. There are limited set of data evidencing that patients who are carriers of the polymorphic variant of *TLR9* gene (rs352162) in homozygous state (CC) display MOF most frequently [10].

Transcription factor *NRF2* (NFE2L2, erythroid-derived factor 2-like nuclear factor 2) is

данные о том, что у больных — носителей полиморфного варианта гена *TLR9* (rs352162) в гомозиготном состоянии (CC) чаще выявляется полиорганная недостаточность (ПОН) [10].

Транскрипционный фактор *NRF2* (NFE2L2, erythroid-derived 2-like 2) участвует в цитопротекции и вызывает экспрессию антиокислительных белков. *NRF2*-зависимый ответ является ключевым защитным механизмом против окислительного стресса [9]. Обнаружено, что у детей с септическим шоком и здоровых детей по-разному экспрессируются гены, активность которых зависит от *NRF2* [9]. Генетические варианты *NRF2* предлагались в качестве кандидатного маркера в патогенезе таких заболеваний, как астма, ОРДС, эмфизема [11]. Показано, что полиморфный вариант *NRF2* (rs6726395, 177238501A>G) GG: 1) ассоциирован с большей продолжительностью жизни при холангиокарциноме [12], 2) связан с достоверно большим объемом форсированного выдоха за одну секунду по сравнению с больными генотипа AA [13], 3) коррелирует с уменьшением риска влажной формы возрастной дегенерации сетчатки [14]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что *NRF2* 177238501A>G GG, вероятно, ассоциирован с повышенной цитопротективной функцией. Поскольку в развитии сепсиса играет роль окислительный стресс, мы предположили, что именно данный полиморфизм ассоциирован с течением и исходом критических состояний.

При сепсисе исследовался только полиморфизм другого сайта — *NRF2*-617 C/A [15], сайт *NRF2* rs6726395 был исследован лишь при респираторных инфекциях [16], при ХОБЛ, кардиоваскулярных болезнях [17]. Поскольку однонуклеотидный полиморфизм *NRF2* rs6726395 не исследовался при сепсисе, мы предположили, что изучение ассоциации полиморфных вариантов SNP rs6726395 и сепсиса у больных с критическими состояниями позволит выявить новые закономерности течения и исхода критических состояний.

### Материал и методы

Была исследована группа больных ( $n=86$ ) в возрасте от 27 до 83 лет, средний возраст — 53,2 года, перенесших хирургическое вмешательство и с развившимся бактериологически доказанным инфекционным процессом в легких (табл. 1). Внутри группы выделяли подгруппы больных, исходя из наличия ОРДС, септического шока, а также сочетания ОРДС и шока. Септический шок оценивали согласно критериям Surviving Sepsis Campaign [18, 19]. Развитие и тяжесть ОРДС оценивали в соответствии с методическими рекомендациями, разработанными в НИИ Общей реаниматологии им. В. А. Неговского [20–24].

Больных, устойчивых к лечению отека легких характеризовали по динамике индекса внесосудистой воды в легких (ИВСВЛ) в течение недели:

involved in cytoprotection and induces the expression of anti-oxidative proteins. The *NRF2*-dependent response represents the key defense mechanism against oxidative stress [9]. It was established that the *NRF2*-driven genes are expressed differently in children with septic shock and healthy children [9]. Genetic variants of *NRF2* were suggested as candidate markers in the pathogenesis of such diseases as asthma, ARDS, emphysema [11]. It has been shown that polymorphic variant of *NRF2* (rs6726395, 177238501A>G) GG is: (1) associated with a longer lifespan in cholangiocarcinoma patients [12], (2) connected with a reliably larger forced expiration volume per one second (FEV1) compared to patients with genotype AA [13], and (3) correlates with a lower risk of the wet form of age-related macular degeneration [14]. The published data evidence that *NRF2* 177238501A>G GG presumably associates with a higher cytoprotective function. Since oxidative stress contributes to sepsis development, we have supposed that exactly this polymorphism associates with the course and outcome of critical illness.

In respect of sepsis, the polymorphism of a different site, *NRF2* -617 C/A, was studied [15], whereas *NRF2* rs6726395 site was investigated only in respiratory infections [16], COPD, and cardiovascular diseases [17]. Since single nucleotide polymorphism of *NRF2* rs6726395 was not studied in patients with sepsis, we assumed that investigation of the association of SNP polymorphic variants of rs6726395 and sepsis in critically ill patients would define new regularities in the course and outcome of critical illness.

### Materials and Methods

The study included a group of patients ( $n=86$ ) aged from 27 to 83 years with a mean age of 53.2 years, who had been exposed to surgical interference and developed a bacteriologically proven pulmonary infection (Table 1). The group was split into sub-groups of patients depending on presence of ARDS, septic shock, and a combination of ARDS and shock. Septic shock was evaluated according to the Surviving Sepsis Campaign criteria [18, 19]. ARDS development and severity was assessed according to the guidelines developed in the V.A. Negovsky Institute of General Reanimatology [20–24].

Patients unresponsive to pulmonary edema treatment were characterized based on the dynamics of extravascular lung water index (EVLWI) during a week:

1. Negative dynamics: EVLWI increase by more than 2 ml/kg within 7 days in spite of delivered treatment;
2. Without significant dynamics: no EVLWI decrease to the normal level (less than 10 ml/kg) within 7 days in spite of delivered treatment;
3. Without significant dynamics — in the group of the most severe pulmonary edema. No EVLWI decrease by 2 ml/kg and over at initial level of 10 ml/kg and over within 7 days in spite of delivered treatment [25, 26].

Patients classified under one of the three above-listed categories were considered unresponsive to treatment.

**Таблица 1. Характеристика нозологической структуры генотипированных больных.**  
**Table 1. Nosologic structure of genotyped patients.**

Diagnosis or Complication	Number of patients with different genotypes			
	<i>NRF2</i> rs6726395, n (%)		<i>TLR9</i> rs352162, n (%)	
	GG	AG, AA	CC	CT, TT
Pancreonecrosis	5 (38.5)	8 (61.5)	4 (30.8)	9 (69.2)
Peritonitis	6 (42.9)	8 (57.1)	5 (35.7)	9 (54.3)
Pleural empyema	1 (25)	3 (75)	1 (25)	3 (75)
Community-acquired pneumonia	3 (50)	3 (50)	0	6 (100)
Malignant neoplasms, including:	9 (30)	21 (70)	11 (36.7)	19 (63.3)
Intestine cancer	1 (16.7)	5 (83.3)	3 (50)	3 (50)
Stomach cancer	1 (33.3)	2 (66.7)	1 (33.3)	2 (66.7)
Biliary tract cancer	1 (33.3)	2 (66.7)	2 (66.7)	1 (33.3)
Esophageal cancer	1 (14.3)	6 (85.7)	2 (28.6)	5 (71.4)
Bladder cancer	3 (60)	2 (40)	2 (40)	3 (60)
Prostate cancer	0	2 (100)	1 (50)	1 (50)
Lung cancer	2 (66.7)	1 (33.3)	0	3 (100)
Liver cancer	0	1 (100)	0	1 (100)
Purulent complication of wound	1 (100)	0	0	1 (100)
Appendicitis	0	2 (100)	0	2 (100)
Abscesses	3 (50)	3 (50)	3 (50)	3 (50)
Mediastinitis	1 (20)	4 (80)	3 (60)	2 (40)
Hemorrhage	1 (100)	0	1 (100)	0
Phlegmon	1 (100)	0	1 (100)	0
Mitral valve prolapse	1 (100)	0	0	1 (100)
Pyelonephritis	1 (100)	0	1 (100)	0
Adhesive obstruction	0	1 (100)	1 (100)	0

**Примечание.** Diagnosis or Complication – диагноз или осложнение; pancreonecrosis – панкреонекроз; peritonitis – перитонит; pleural empyema – эмпиема плевры; community-acquired pneumonia – внебольничная пневмония; malignant neoplasms, including – злокачественные новообразования, в том числе; intestine cancer – рак кишечника; stomach cancer – рак желудка; biliary tract cancer – рак желчных протоков; esophageal cancer – рак пищевода; bladder cancer – рак мочевого пузыря; prostate cancer – рак простаты; lung cancer – рак легкого; liver cancer – рак печени; purulent complication of wound – гнойное осложнение раны; appendicitis – аппендицит; abscesses – абсцессы; mediastinitis – медиастинит; hemorrhage – кровотечение; phlegmon – флегмона; mitral valve prolapse – пролапс митрального клапана; pyelonephritis – пиелонефрит; adhesive obstruction – спаечная непроходимость; number of patients – число больных (также для табл. 2); with different genotypes – с различными генотипами.

1. Отрицательная динамика: увеличение значения ИВСВЛ более чем на 2 мл/кг за 7 дней, несмотря на проводимое лечение;

2. Без существенной динамики: отсутствие снижения ИВСВЛ до нормального уровня (менее 10 мл/кг) в течение 7 дней, несмотря на проводимое лечение;

3. Без существенной динамики – в группе наиболее выраженного отека легких. Отсутствие снижения ИВСВЛ на 2 мл/кг и более при начальном уровне 10 мл/кг и более за 7 дней, несмотря на проводимое лечение [25, 26]. Резистентными к лечению признавали больных, относящихся к одной из трех перечисленных категорий.

Тяжесть состояния больных, степень повреждения легких, развитие нозокомиальной пневмонии, воспалительных процессов оценивали по соответствующим шкалам (APACHE II, Murray, CPIS и т.д.) согласно рекомендуемым критериям [25, 27, 28].

ДНК для генотипирования выделяли из цельной крови с помощью наборов Diatom DNA Prep 200, согласно прилагаемой инструкции (ООО «Лаборатория Изоген»). Информация о полиморфизме и распределении частот генотипов в европеоидной популяции SNP *NRF2* rs6726395 и *TLR9* rs352162 взята из публично доступной базы данных сайта NCBI [29]. На основании данных были синтезированы праймеры для *NRF2* rs6726395:

1. Прямой внешний ( $F_1$ ) –  
5'-TGCAACTGAAGCAATTTAGG-3',

The severity of patients' conditions, the degree of pulmonary lesion, development of nosocomial pneumonia, inflammatory processes were evaluated according to appropriate scales (APACHE II, Murray, CPIS etc.) according to the recommended criteria [25, 27, 28].

DNA for genotyping was isolated from whole blood with the aid of Diatom DNA Prep 200 sets according to manufacturer's protocol (Laboratory Izogen LLC). Data on polymorphism and distribution of genotype frequencies in the Caucasian population for SNP *NRF2* rs6726395 and *TLR9* rs352162 was taken from the public database of NCBI website [29]. On the basis of data, the following primers for *NRF2* rs6726395 were synthesized:

1. Forward external ( $F_1$ ) –  
5'-TGCAACTGAAGCAATTTAGG-3',
2. Reverse external ( $R_1$ ) –  
5'-CTCATTATTATCCATTGGCCTG-3',
3. Forward internal ( $F_2$ ) –  
5'-ATTATTCATCCTACCCAAGCA-3',
4. Reverse internal ( $R_2$ ) –  
5'-TTGATCCACTAACATCTGTAC-3'.

For *TLR9* rs352162:

1. Forward external ( $F_1$ ) –  
5'-CTGAGATAGTGGTGCGCGGCT-3',
2. Reverse external ( $R_1$ ) –  
5'-CCACTGTTGAGTGGCTCTGA-3',
3. Forward internal ( $F_2$ ) –  
5'-GAAGGTCCACCAGGAAGTCTGCT-3',



## Original Observation

2. Обратный внешний ( $R_1$ ) –  
5'-СТСАТТАТТАТССАТТGGCCTG-3',
  3. Прямой внутренний ( $F_2$ ) –  
5'-АТТАТССАТССТАСССААGCA-3',
  4. Обратный внутренний ( $R_2$ ) –  
5'-ТТГАТССАСТААСАТСТGTAC-3'.
- Для *TLR9* rs352162:
1. Прямой внешний ( $F_1$ ) –  
5'-СТГАГАТАГТGGTGGCGGCT-3',
  2. Обратный внешний ( $R_1$ ) –  
5'-ССАСТГТТГАТGGCTCTGA-3',
  3. Прямой внутренний ( $F_2$ ) –  
5'-GAAGGTCCACCAGGAАСТGCT-3',
  4. Обратный внутренний ( $R_2$ ) –  
5'-АТТGCCAGGCCACCCCTCCG-3'

Генотипирование ДНК проводили с помощью тетрапраймерной полимеразной цепной реакции (ПЦР) [30]. Принцип метода следующий: две пары праймеров в одной пробирке одновременно амплифицируют оба аллеля – мутантный и нормальный, а также контрольный фрагмент ДНК [31–35]. Одна пара праймеров (прямой внутренний и обратный внешний) амплифицировала один аллель, тогда как вторая пара праймеров (внешний прямой и внутренний обратный) – другой. Прямой внешний и обратный внешний праймеры амплифицировали контрольный фрагмент ДНК.

Аллель-специфичные ампликоны имели разные длины и определялись с помощью гель-электрофореза. Аллель-специфическую ПЦР проводили в программируемом термостате GenAmp 9700 (Applied Biosystems, США). Использовали следующие режимы постановки ПЦР: для *NRF2* rs6726395: Тд – 95°C, 30 с, То – 61,4°C, 30 с, Тэ – 72°C, 30с (32 цикла), Тэ – 72°C с последующей пролонгацией при 72°C в течении 7 минут; для *TLR9* rs352162: Тд – 95°C, 30 с, То – 64,2°C, 30 с, Тэ – 72°C, 30с (32 цикла), Тэ – 72°C с последующей пролонгацией при 72°C в течении 7 минут.

Продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле с последующей визуализацией результатов в проходящем УФ-свете (рис. 1). Распределение частот аллелей на соответствие закону Харди-Вайнберга проверяли с помощью теста  $\chi^2$ . В исследовании сравнивали частоты гомозигот с остальными генотипами в группах больных. Степень ассоциации генотипов и заболеваний характеризовали с помощью показателя соотношения шансов (OR, odds ratio и 95-процентные доверительные интервалы). Статистическую обработку осуществляли при помощи программы InStat GraphPad (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA): для пропорций применяли точный метод Фишера (ТМФ), для количественных показателей (в зависимости от характера распределения показателей) – критерий Манна-Уитни или критерий  $t$  Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Распределения частот в выборке больных по SNP *NRF2* rs6726395 составили: AA – 10,5%, AG – 51,2%, GG – 38,3% (N=86), что соответствовало закону Харди-Вайнберга ( $\chi^2=1,035$ ,  $p=0,309$ ) (рис. 2, а). Распределения частот в группе больных по SNP *TLR9* rs352162 составили: CC –

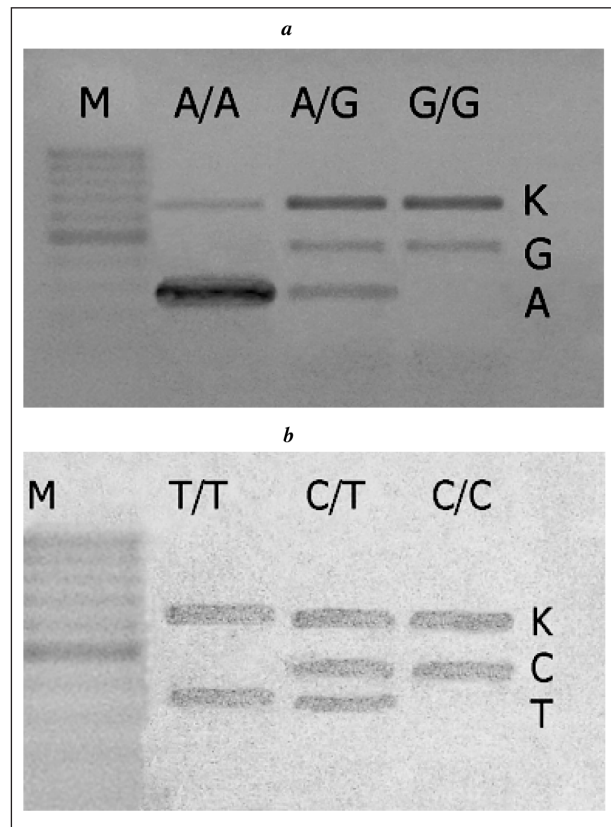


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации.

Fig. 1. Electrophoregram of amplification products.

Note. a – *NRF2* rs6726395. K – amplification control, 401 bps, G – allele G, 275 bps, A – allele A, 168 bps. b – *TLR9* rs352162. K – amplification control, 360 bps, C – allele C, 232 bps, T – allele T, 168 bps.

Примечание. a – *NRF2* rs6726395. K – контроль амплификации, 401 п.н., G – аллель G, 275 п.н., A – аллель A, 168 п.н. b – *TLR9* rs352162. K – контроль амплификации, 360 п.н., C – аллель C, 232 п.н., T – аллель T, 168 п.н.

4. Reverse internal ( $R_2$ ) –  
5'-АТТGCCAGGCCACCCCTCCG-3'

DNA genotyping was conducted using tetraprimer polymerase chain reaction (PCR) [30]. The principle of the technique is as follows: two pairs of primers in one test tube concurrently amplify both alleles, the mutant one and the normal one, as well as control DNA fragment [31–35]. One pair of primers (forward internal and reverse external) amplified one allele, the second pair of primers (forward external and reverse internal) amplified the another allele. Forward external and reverse external primers amplified control DNA fragment.

Allele-specific amplicons were of different lengths and were identified using gel electrophoresis. Allele-specific PCR was performed using the programmable thermostat GenAmp 9700 (Applied Biosystems, USA). The following PCR setting modes were employed: for *NRF2* rs6726395: Тд – 95°C, 30 sec, То – 61.4°C, 30 sec, Те – 72°C, 30 sec (32 cycles), Те – 72°C followed with extension at 72°C for 7 minutes; for *TLR9* rs352162: Тд – 95°C, 30 sec, То – 64.2°C, 30 sec, Те – 72°C, 30 sec (32 cycles), Те – 72°C followed with an extension at 72°C for 7 minutes.

The amplification products were separated using electrophoresis in 2% agarose gel with subsequent UV trans-

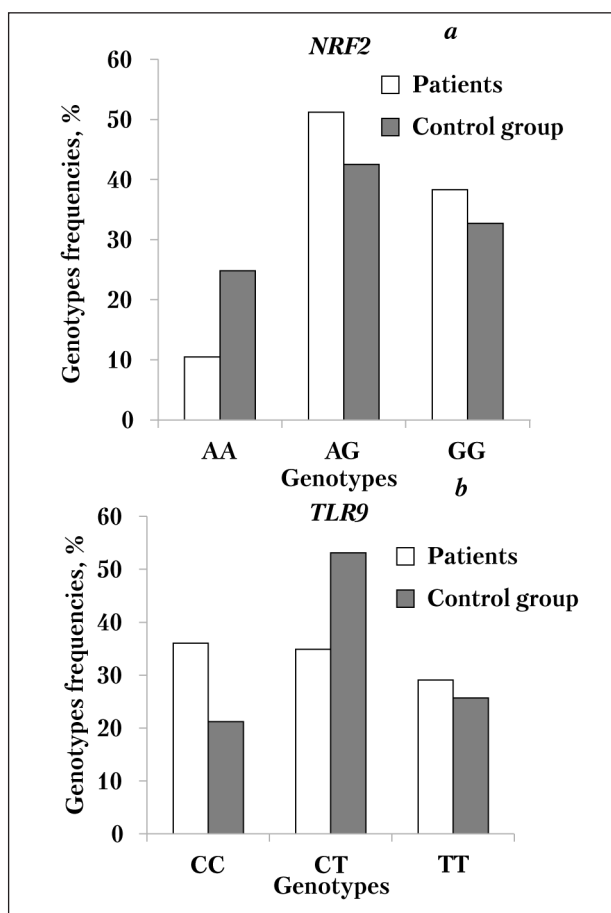


Рис. 2. Распределение больных по частотам генотипов по сравнению с данными популяционных исследований частот встречаемости (группа сравнения).

Fig. 2. Patient distribution by genotype frequencies versus population-based studies of frequencies occurrence (the control group).

Note. *a* – *NRF2* rs6726395. Comparison versus the Caucasian population data (control): AA –  $P=0.009$ , AG –  $P=0.211$ , GG –  $P=0.422$ . *b* – *TLR9* rs352162. Comparison versus the Caucasian population data (control): CC –  $P=0.011$ , CT –  $P=0.006$ , TT –  $P=0.642$ . The control group included the data from publicly available data from studies in the Caucasian population (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

Примечание. *a* – *NRF2* rs6726395. Сравнение с данными по европеоидной популяции: AA –  $P=0,009$ , AG –  $P=0,211$ , GG –  $P=0,422$ . *b* – *TLR9* rs352162. Сравнение с данными по европеоидной популяции: CC –  $P=0,011$ , CT –  $P=0,006$ , TT –  $P=0,642$ . Группа сравнения – данные публично доступных исследований в европеоидной популяции (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>). Patients – больные (также для рис. 4, табл. 4); control group – группа сравнения; genotypes – генотипы; frequencies – частоты (также для рис. 3, 5, 6; табл. 2, 4).

36,1%, CT – 34,9%, TT – 29,1% ( $n=86$ ), что не соответствует закону Харди-Вайнберга ( $p=0,006$ ) (рис. 2, *b*). Причины данного расхождения неизвестны, по-видимому, эффект связан с селективностью выборки. Полученные данные несколько отличаются от группы сравнения (рис. 2, *b*), что, возможно, является результатом относительно небольшого размера выборки.

mittive imaging of the results (Fig. 1). Distribution of alleles frequencies for compliance with Hardy-Weinberg equilibrium was evaluated by  $\chi^2$  test. The study compared the frequencies of homozygotes versus other genotypes in patient groups. The degree of association between genotypes and diseases was characterized using the odds ratio (OR) and 95-percent confidence intervals. Statistic processing was performed using InStat GraphPad (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA): for binary values, the Fisher's exact test (FET) was employed; for quantitative values, Mann-Whitney test or Student's *t*-test were employed depending on distribution of variables. Differences between groups (subgroups) were considered significant at  $P<0.05$ .

## Results and Discussion

Frequencies distributions of SNP *NRF2* rs6726395 in patients were: AA – 10,5%, AG – 51,2%, GG – 38,3% ( $n=86$ ), which corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium ( $\chi^2=1.035$ ,  $P=0.309$ ) (Fig. 2, *a*). Frequencies distributions of SNP *TLR9* rs352162 in patients were: CC – 36,1%, CT – 34,9%, TT – 29,1% ( $n=86$ ), which did not correspond to the Hardy-Weinberg equilibrium ( $P=0.006$ ) (Fig. 2, *b*). The reasons for this disagreement are unknown; the effect seems to be related to sample selectivity. The data obtained somewhat differ from the comparison group (Fig. 2, *b*), which might result from the relatively small sample size.

About a half of all patients ( $n=41$ ) were patients with septic shock. From the 11 patients with septic shock among carriers of allele *NRF2* GG (rs6726395), 10 died and only one survived. For the other 30 patients with septic shock the figures are 11 and 19, respectively. The data on Fig 3 demonstrate significantly higher mortality rate in septic shock patients with genotype *NRF2* 177238501A>G GG compared to septic shock patients with genotypes *NRF2* 177238501A>G AA, AG (OR=17,21,  $P<0.004$ , FET). Specificity was 0.950 (0.751–0.999), sensitivity was 0.476 (0.257–0.702), positive predictive value (PPV) 0.909 (Fig. 3).

Groups of patients were identified, who responded to treatment differently (see Materials and Methods). The patients relatively unresponsive to the treatment during the first week of treatment accounted for less than a half of the group (Table 2).

In the general group of patients, no reliable difference based on EVLWI values between different patients with different genotypes of *NRF2* was found (Fig. 4, *a*). However, in patients of *NRF2* 177238501A>G GG genotype, EVLWI values were reliably increased on day 7 of treatment compared to the first day of treatment. The same regularity was discovered among patients with genotype *NRF2* 177238501A>G GG and septic shock. Patients without septic shock tended to have higher EVLWI values (Fig. 4, *b*).

The data demonstrate that it is *NRF2* 177238501A>G GG genetic variant that is associat-

## Original Observation

Таблица 2. Сравнение числа больных различных генотипов *NRF2* rs6726395 по критерию чувствительности к лечению.

Table 2. Comparison of the Number of Patients of Different Genotypes of *NRF2* rs6726395 Based on Responsiveness to Treatment.

Genotypes	Number of Patients, n (%)			
	All		Septic Shock	
	Responsive	Unresponsive	Responsive	Unresponsive
<i>NRF2</i> 177238501A>G GG	15 (45,5)	18 (54,5)	1 (9,1)	10 (90,9)
<i>NRF2</i> 177238501A>G AG, AA	34 (64,2)	19 (35,8)	19 (63,3)	11 (36,7)
P (PFM)	>0.05		0.0036	
OR			17.273	

Примечание. All — все; septic shock — септический шок (также для рис. 4, 5; табл. 3, 4); responsive — чувствительные к лечению; unresponsive — резистентные к лечению.

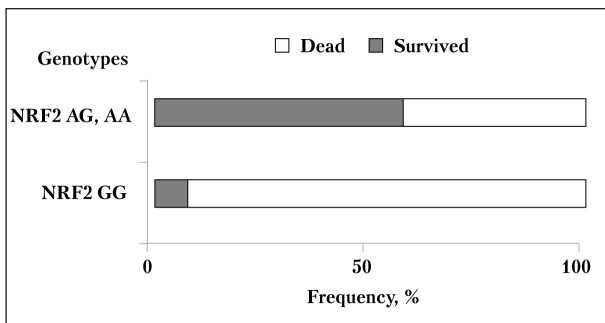


Рис. 3. Выживаемость при септическом шоке у больных с различными генотипами *NRF2* rs6726395 (OR=17,21,  $P=0,004$ ,  $n=41$ ).

Fig. 3. Septic shock survivability in patients having different genotypes *NRF2* rs6726395 (OR=17.21,  $P=0.004$ ,  $n=41$ ).

Примечание. Survived — выжившие; dead — умершие.

Около половины всех больных ( $n=41$ ) составляли больные с септическим шоком. Среди 11 больных с септическим шоком из носителей аллеля *NRF2* GG (rs6726395) умерли 10, выжил только один больной. Среди остальных 30 больных с септическим шоком — 11 и 19 соответственно. Полученные данные указывают на существенное увеличение летальности среди больных с септическим шоком генотипа *NRF2* 177238501A>G GG по сравнению с больными с шоком генотипов *NRF2* 177238501A>G AA, AG (OR=17,21,  $p<0,004$ , ТМФ). При этом специфичность составила 0,950 (0,751–0,999), чувствительность — 0,476 (0,257–0,702), положительное прогностическое значение (PPV, Positive Predictive Value) — 0,909 (рис. 3).

Были выделены группы больных, по-разному реагирующих на лечение (см. Материалы и методы). Резистентные к лечению больные составляли меньше половины из всей выборки (табл. 2).

В общей группе больных достоверных отличий по показателю ИВСВЛ между разными больными с различными генотипами *NRF2* 177238501A>G обнаружено не было (рис. 4, а). Однако, у больных с генотипом *NRF2* 177238501A>G GG показатели ИВСВЛ досто-

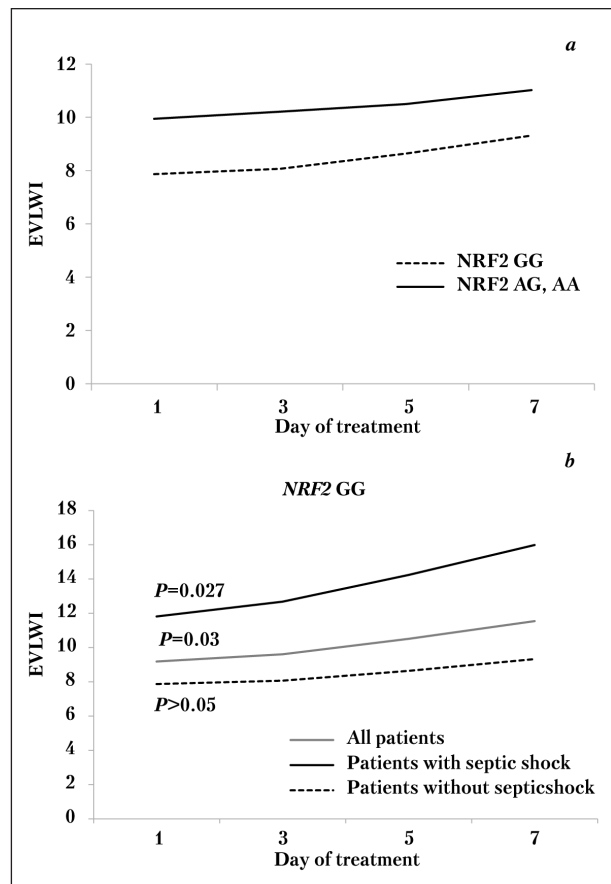


Рис. 4. Динамика изменения ИВСВЛ у больных на 1–7 дни лечения.

Fig. 4. EVLWI dynamics in patients on days 1–7 of treatment. Note. a — Patients with different genotypes *NRF2*; b — Patients with genotype *NRF2* 177238501A>G GG

Примечание. a — Больные с различными генотипами *NRF2*; b — больные с генотипом *NRF2* 177238501A>G GG. EVLWI — ИВСВЛ; day of treatment — сутки лечения; with/without — с/без (также для табл. 3, 4).

ed with development of unresponsive edema, i.e. that group of patients is prone to unfavorable course of septic shock despite the intensive care.

Comparison of two groups of patients (*NRF2* 177238501A>G GG-positive versus *NRF2* 177238501A>G GG-negative) found no difference in

**Таблица 3. Средние значения по шкале APACHE II у больных с различными генотипами *NRF2* ( $\pm$  стандартное отклонение).****Table 3. Mean APACHE II Values in Patients with Different *NRF2* Genotypes ( $\pm$  standard deviation).**

		APACHE II Values in patients groups			
all		with septic shock		without septic shock	
<i>NRF2</i>	<i>NRF2</i>	<i>NRF2</i>	<i>NRF2</i>	<i>NRF2</i>	<i>NRF2</i>
177238501	177238501	177238501	177238501	177238501	177238501
A>G GG	A>G AG, AA	A>G GG	A>G AG, AA	A>G GG	A>G AG, AA
15,57 $\pm$ 0,91	14,79 $\pm$ 0,53	17,64 $\pm$ 1,52	14,57 $\pm$ 0,72	14,54 $\pm$ 0,95	15,09 $\pm$ 0,87
$P>0.05, n=86$		$P=0.027$ (t-test), $n=41$		$P>0.05, n=45$	

**Note.** Mean APACHE II scores and mean errors are shown.

**Примечание.** Values in patients groups – значения в группах больных. Представлены средние значения баллов по шкале APACHE II с ошибкой среднего.

**Таблица 4. Распределение частот генотипов *NRF2* 177238501A>G среди больных с нозокомиальной пневмонией и без развившейся нозокомиальной пневмонии.****Table 4. Distribution of *NRF2* 177238501A>G Genotypes among Patients Who Developed Nosocomial Pneumonia and Who Did Not Develop Nosocomial Pneumonia.**

Genotypes	Patients	
	With Nosocomial Pneumonia	Without Nosocomial Pneumonia
<i>NRF2</i> 177238501A>G GG, (%)	16 (48.48)	17 (51.52)
<i>NRF2</i> 177238501A>G AG, AA, (%)	31 (58.49)	22 (41.51)

**Note.**  $P=1.000$  (FET).

**Примечание.**  $P=1,000$  (ТМФ). Nosocomial Pneumonia – нозокомиальная пневмония (также для рис. 6).

верно повышались на 7-й день лечения по сравнению с первым днем лечения. Эта закономерность наиболее была выражена у больных с септическим шоком. У больных без септического шока обнаружена тенденция к повышению уровня ИВСВЛ (рис. 4, b).

Полученные данные указывают на то, что именно наличие генотипа *NRF2* 177238501A>G GG у больных ассоциировано с развитием отека легких, резистентного к лечению, т. е. данная группа больных характеризуется предрасположенностью к неблагоприятному течению септического шока несмотря на предпринятое интенсивное лечение.

При сравнении двух групп больных (*NRF2* 177238501A>G GG-положительных и *NRF2* 177238501A>G GG-отрицательных) различий по шкале APACHE II не было выявлено. Однако, среди больных с септическим шоком у носителей генотипа *NRF2* 177238501A>G GG отмечены более высокие значения по шкале APACHE II ( $p=0,027$ ) (табл. 3). Тенденция к повышению значений по шкале APACHE II у носителей генотипа *NRF2* 177238501A>G GG наблюдалась в группе всех больных, тогда как в группе больных без септического шока тенденция была обратная.

Таким образом, повышенная летальность больных с септическим шоком генотипа *NRF2* 177238501A>G GG может быть обусловлена большей степенью тяжести клинических проявлений по шкале APACHE.

Частоты генотипов *NRF2* 177238501A>G (GG, GA, AA) у больных с развившейся нозоко-

миальной пневмонией и без развившейся нозокомиальной пневмонии. Однако, в подгруппе больных с септическим шоком более высокие значения по шкале APACHE II были отмечены у больных с *NRF2* 177238501A>G GG генотипом ( $P=0.027$ , Table 3). Тенденция к более высоким значениям по шкале APACHE II у больных с *NRF2* 177238501A>G GG генотипом была отмечена в группе всех больных, однако, в подгруппе больных без септического шока была отмечена обратная тенденция.

Поэтому, повышенная летальность у больных с септическим шоком, имеющих *NRF2* 177238501A>G GG генотип, может быть обусловлена большей тяжестью клинических проявлений септического шока по шкале APACHE.

Частоты генотипов *NRF2* 177238501A>G (GG, GA, AA) в группах больных с нозокомиальной пневмонией и без нозокомиальной пневмонии не различались (Table 4).

Таким образом, ассоциация между аллелем G (177238501A>G) локуса *NRF2* в гомозиготном состоянии и неблагоприятным течением и исходом была отмечена у больных с септическим шоком, а не нозокомиальной пневмонией.

Анализ комбинаций аллелей локусов *TLR9* 52218953T>C и *NRF2* 177238501A>G у критически больных показал, что среди 12 пациентов, которые одновременно были гомозиготными по обоим локусам (*NRF2* 177238501A>G (GG) и *TLR9* 52218953T>C (CC)), только один пациент развился с септическим шоком (Fig. 5).

Однако, у пациентов без комбинации аллелей, почти половина пациентов развилась с септическим шоком ( $P=0.004$  с поправкой Бонферрони из-за модели двух локусов).



## Original Observation

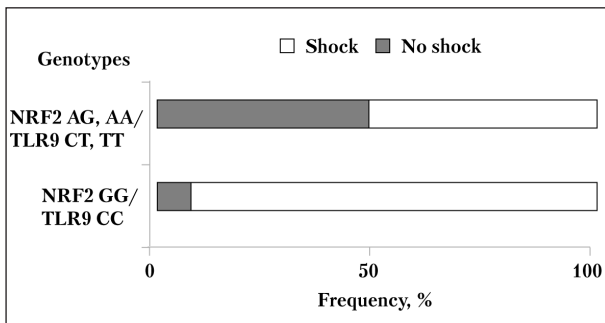


Рис. 5. Развитие септического шока у больных с различными генотипами *NRF2* 177238501A>G и *TLR9* 52218953T>C.

Fig. 5. Development of septic shock in patients with different genotypes of *NRF2* 177238501A>G and *TLR9* 52218953T>C.

Note.  $P=0.004$  with a Bonferroni correction because of a two-locus model.

Примечание.  $p=0,004$ , с учетом поправки Bonferroni на использование двух локусов. No – нет (также для рис. 6).

миальной пневмонией и без пневмонии не различались (табл. 4).

Таким образом, только для групп больных с септическим шоком, но не нозокомиальной пневмонией, была характерна ассоциация аллели G *NRF2* 177238501A>G в гомозиготном состоянии с неблагоприятным течением и исходом.

При изучении комбинации аллелей *TLR9* 52218953T>C и *NRF2* 177238501A>G у больных с критическими состояниями было обнаружено, что из 12 больных, одновременно гомозиготных и по *NRF2* 177238501A>G (GG) и по *TLR9* 52218953T>C (CC) только у одного больного развился септический шок (рис. 5).

При этом у больных, не несущих данной комбинации аллелей, септический шок развился у половины больных ( $p=0,004$ , с учетом поправки Bonferroni на использование двух локусов). Это позволяет полагать, что комбинация аллелей *NRF2* 177238501A>G GG и *TLR9* 52218953T>C CC у одних и тех же больных защищает от развития септического шока. Другими словами, при сочетании аллелей *NRF2* 177238501A>G GG, «неблагоприятных» для развития септического шока, с *TLR9* 52218953T>C CC шок практически не развивается. Интересно, что частота заболеваемости нозокомиальной пневмонией среди больных с сочетанием аллелей *NRF2* GG/*TLR9* CC была ниже, чем у больных, не имеющих такого сочетания аллелей (рис. 6).

Так, среди 12 больных с генотипом *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC нозокомиальная пневмония развилась лишь у трех, тогда как среди больных с другими генотипами – у 44 из 74, соответственно (OR= 0,227,  $p=0,032$ , без учета поправки Bonferroni).

Таким образом, аллели GG *NRF2* 177238501A>G в гомозиготном состоянии определяют неблагоприятное течение и исход септи-

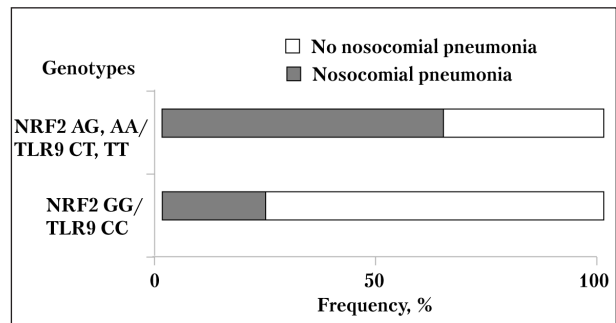


Рис. 6. Заболеваемость нозокомиальной пневмонией у больных с различными генотипами *NRF2* 177238501A>G и *TLR9* 52218953T>C.

Fig. 6. Occurrence of nosocomial pneumonia in patients with different genotypes in *NRF2* 177238501A>G and *TLR9* 52218953T>C loci.

This fact suggests that the combination of specific alleles of two loci, *NRF2* 177238501A>G GG and *TLR9* 52218953T>C C, in the same patient protects against the development of septic shock. In other words, when alleles *NRF2* 177238501A>G GG, which are 'unfavorable' for the development of septic shock, are combined with *TLR9* 52218953T>C CC, shock is not developing. Interestingly, the occurrence of nosocomial pneumonia among patients with a two-loci combination of alleles *NRF2* GG/*TLR9*CC (177238501A>G/ 52218953T>C) was lower than among patients who did not carry that combination of alleles (Fig. 6).

Fig. 6 demonstrates that in 12 patients with genotypes *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC only 3 patients developed nosocomial pneumonia, whereas in patients with other genotypes – in 44 of 74, respectively (OR=0.227,  $P=0.032$ , without Bonferroni correction).

Hence, homozygous alleles GG *NRF2* 177238501A>G determine the unfavorable course and outcome of septic shock and, to a lesser degree, nosocomial pneumonia, but only in combination with alleles *TLR9* 52218953T>C CT or *TLR9* 52218953T>C TT. However, the combination of alleles *TLR9* 52218953T>C CC in the same patients with the 'unfavorable' variant *NRF2* 177238501A>G GG protects against the development of septic shock and nosocomial pneumonia.

Interestingly, genotype *NRF2* GG (rs6726395) is associated with decreased risk of wet age-related macular degeneration [14]. Since oxidative stress plays a role in pathogenesis of this disease [36], one can suppose that particularly this genotype is associated with increased production of *NRF2*, the master regulator of the transcription activity of cellular antioxidative enzymes. During oxidative stress, *NRF2* translocates into the nucleus and interacts with the antioxidant response element (ARE) promoter regions to increase gene expression [37].

ческого шока и в меньшей степени — нозокомиальной пневмонии, но только в сочетании с аллелями *TLR9* 52218953T>C СТ или *TLR9* 52218953T>C ТТ. При этом комбинация аллелей *TLR9* 52218953T>C СС у одних и тех же больных с «неблагоприятным» вариантом *NRF2* 177238501A>G GG защищает от развития септического шока и нозокомиальной пневмонии.

Интересно, что генотип *NRF2* GG (rs6726395) ассоциируется с уменьшением риска возникновения влажной формы возрастной дегенерации сетчатки [14]. Поскольку окислительный стресс играет роль в патогенезе этого заболевания [36], можно предположить, что именно этот генотип ассоциируется с повышенной продукцией *NRF2* — ключевого регулятора транскрипционной активности антиокислительных ферментов клетки. Во время окислительного стресса *NRF2* транлоцируется в ядро и связывается с промоторными областями генов антиоксидант-чувствительных элементов (antioxidant response elements, ARE), что определяет повышенную экспрессию гена [37]. Сепсис сопровождается недостаточностью антиоксидантной системы, что приводит к состоянию продолжительного и неконтролируемого окислительного стресса и клеточной гибели [38].

Генотип *NRF2* GG (rs6726395) ассоциирован с максимальным ежегодным падением объема форсированного выдоха у курильщиков [39]. С другой стороны, данный генотип связан с большим объемом форсированного выдоха за одну секунду [13]. Измерения количественных различий уровня экспрессии *NRF2* у больных различных генотипов позволят приблизиться к выяснению механизма ассоциации полиморфных вариантов *NRF2* и течения и исхода критических состояний.

В литературе имеются данные о том, что генетический вариант С в промоторной области гена *NRF2* (-617 C/A) ассоциируется с большей экспрессией гена [40–42]. Замена С на Т в SNP *NRF2* T336C может значительно уменьшить экспрессию гена *NRF2* [43]. Однако мы не обнаружили в литературе данных об ассоциации количественных параметров экспрессии *NRF2* и исследуемого в нашей работе SNP (rs6726395) *NRF2* в области первого интрона. Можно предполагать, что эффект генотипа *NRF2* 177238501A>G GG в отношении исхода септического шока и резистентности к лечению отека легких обусловлен неравновесным сцеплением данного интронного сайта с другими полиморфными сайтами гена (например, в промоторной области *NRF2*), непосредственно контролирующими экспрессию *NRF2*. Однако, данные, подтверждающие внутрилокусное неравновесное сцепление SNP *NRF2* rs6726395 с другими SNP, отсутствуют [39].

Нельзя исключить и возможной регуляторной роли интрона, в котором расположен SNP, в

Sepsis is accompanied by anti-oxidant system insufficiency leading to continuous and uncontrolled oxidative stress that results in cell death[38].

Genotype *NRF2* GG (rs6726395) is associated with maximum annual decrease of the forced expiration volume in smokers [39]. On the other hand, this genotype is connected with a larger forced expiration volume per one second [13]. Measurements of quantitative differences in the level of *NRF2* expression in patients with different genotypes will allow getting closer to defining the mechanism of influence of this single nucleotide polymorphism on the course and outcome of critical conditions.

There are reports that genetic variant C in the promoter region of *NRF2* (-617 C/A) gene is associated with higher expression of the gene [40–42]. Substitution of C by T in SNP *NRF2* T336C may considerably reduce expression of *NRF2* [43]. However, we have found no published data on the association between the quantitative parameters of *NRF2* expression and SNP (rs6726395) in the first intron region of *NRF2* studied in this work. It can be surmised that the effect of genotype *NRF2* 177238501A>G GG on septic shock outcome and unresponsiveness of lung edema to therapy is due to non-equilibrium linkage of this intron site with other polymorphic sites of the gene (for example, in the promoter region of *NRF2*), directly controlling the *NRF2* expression. There are, however, no data confirming intra-locus non-equilibrium linkage of *NRF2* rs6726395 SNP with other SNPs [39].

The probable regulatory role of the intron where this SNP is located in gene expression cannot be excluded. It is known that intron regions may participate in mRNA splicing and formation of secondary pre-mRNA structures, thus affecting gene expression [44]. Other data suggest that different SNP alleles of *NRF2* locus have a functional role in the regulation of *NRF2* expression [40, 41]. Though this SNP is found in the first intron of the gene, allelic variants did not correlate with different levels of mRNA according to GENEVAR database [45]. At the same time, GENEVAR uses data obtained only in three types of cells (fibroblasts, lymphoblastoid cells and T cells). Therefore, one cannot exclude that in alveolar macrophages, rs6726395 adversely affects the transcription activity of *NRF2*, down-regulating the key enzymes of cytoprotection in these cells [46]. Interestingly, in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) the decreased expression of *NRF2* mRNA was found specifically in macrophages [39, 47].

*NRF2* gene product is an antagonist of the key pro-inflammatory regulator, the transcription factor NFκB. When the expression of *NRF2* is increased, the production of NFκB declines [48]. Since NFκB evokes the inflammatory responses by innate immunity cells, an increase in *NRF2* expression might result in reduced immune responses favoring the develop-

экспрессии генов. Известно, что интронные области могут участвовать в сплайсинге мРНК и в формировании вторичных структур пре-мРНК, влияя тем самым на экспрессию генов [44]. Эти данные позволили предположить, что различные аллели SNP *NRF2* имеют функциональное значение в регуляции экспрессии *NRF2* [40, 41]. Хотя данный SNP находится в первом интроне гена, аллельные варианты не коррелировали с различными уровнями мРНК в соответствии с базой данных GENEVAR [45]. Однако в базе GENEVAR используются данные, полученные при изучении только трех типов клеток (фибробласты, лимфоцитоидные и Т-клетки). Поэтому, не исключено, что в альвеолярных макрофагах вариант rs6726395 негативно влияет на транскрипционную активность *NRF2*, приводя к снижению в них уровня ключевых ферментов цитопротекции в условиях оксидантного стресса [46]. Интересно, что при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) отмечается снижение экспрессии мРНК *NRF2* именно в макрофагах [39, 47].

Продукт гена *NRF2* является антагонистом ключевого провоспалительного регулятора — транскрипционного фактора NFκB. При повышенном уровне экспрессии *NRF2* снижается продукция NFκB [48]. Так как NFκB способствует развитию воспалительных реакций, обусловленных активностью клеток врожденного иммунитета, увеличение экспрессии *NRF2* может привести к снижению иммунного ответа, предрасполагает к развитию полибактериальной инфекции, включая инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (внутрибольничные инфекции) — один из наиболее неблагоприятных факторов при сепсисе. Поскольку повышенная экспрессия *NRF2* приводит к уменьшению количества активных форм кислорода (АФК) [49], снижение их продукции клетками врожденного иммунитета — нейтрофилами, макрофагами, дендритными клетками, в меньшей степени защитит от бактерий [50]. Это приведет к увеличению бактериальной нагрузки и утяжелению течения сепсиса вплоть до развития септического шока под воздействием большего количества бактериальных эндотоксинов в циркуляции.

Следует отметить, что лейкоциты больных генотипа *TLR9* CC rs352162 продуцируют больше ФНОα при стимуляции бактериальным липополисахаридом [10]. ФНОα защищает от развития инфекционного процесса в легких [51]. *NRF2*, выступая не только в качестве индуктора антиоксидантного ответа, но и как фактор усиления противовоспалительной активности клеток, может усугубить течение септического шока и способствовать неблагоприятному исходу [52–54]. Можно полагать, что именно поэтому генетический вариант *NRF2* 177238501A>G GG, предположительно

ment of polybacterial infection including healthcare associated infection that is one of the most unfavorable factor in sepsis. Since increased expression of *NRF2* results in decreased quantity of reactive oxygen species (ROS) [49], by the declined production of ROS by innate immunity cells such as neutrophils, macrophages, dendritic cells, would result in less protection against bacteria [50]. Enhanced bacterial load may aggravate the course of sepsis up to the development of septic shock due to increased bacterial endotoxins in circulation.

It should be noted that leukocytes of patients with *TLR9* CC rs352162 genotype produce more TNFα when stimulated by bacterial lipopolysaccharide [10]. TNFα protects against development of pulmonary infection process [51]. *NRF2*, acting not only as anti-oxidant response inducer, but as a factor intensifying cellular anti-inflammatory activity, may aggravate the course of septic shock and promote the unfavorable outcome [52–54]. One can suppose this to be the reason why the variant *NRF2* 177238501A>G GG, by presumably promoting excessive anti-inflammatory activity, leads to excessive suppression of immune responses followed by unfavorable course and outcome of septic shock [55]. On the other hand, since immune cells of the *TLR9* 52218953T>C CC patients have a better infection protection potential, the combination of genotypes *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC is favorable during infection complications in critical illness.

There may be additional mechanisms explaining the discovered phenomenon. For instance, contribution of *TLR9* molecules in restoration of intestine epithelium after treatment with sodium dodecyl sulfate and cytoprotective modulation of production of mitochondrial ATP in cardiomyocytes and neurons has been shown [8, 44, 56]. These data suggest that cytoprotective function of *TLR9* might also contribute to protection of cells from excessive cellular stress in septic shock.

It cannot be excluded that the unfavorable effect of GG *NRF2* (rs6726395) alleles in patients with critical illness and infection is caused by more complex mechanisms of *NRF2* expression activation. On the one hand, transcription factor *NRF2* induces expression of antioxidant enzymes, protecting cells from oxidative stress. On the other hand, there are evidence that when a critical threshold of ROS content in the cell is increasing up to a certain critical threshold, *NRF2* stimulates expression of Kruppel-like factor 9 (KLF9) transcription factor, which results in further increase of ROS production and cell death [57]. It cannot be excluded that the supposedly increased activity of *NRF2* in septic shock patients of *NRF2* 177238501A>G GG (rs6726395) genotype paradoxically leads to excessive production of ROS, assisting development of more severe MOF and lethal outcome. Interestingly, data analy-



способствуя избыточной противовоспалительной активности, приводит к излишнему подавлению иммунных реакций с последующим неблагоприятным течением и исходом септического шока [55]. С другой стороны, поскольку иммунные клетки больных *TLR9* 52218953T>C CC несут лучший потенциал защиты от инфекции, комбинация генотипов *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC является благоприятной при инфекционных осложнениях критических состояний.

Возможны и дополнительные механизмы, объясняющие обнаруженный феномен. Так, показан вклад молекул *TLR9* в восстановлении эпителия кишечника после обработки додецилсульфатом натрия и цитопротективной модуляции продукции митохондриальной АТФ в кардиомиоцитах и нейронах [8, 44, 56]. Поэтому можно полагать, что цитопротективная функция *TLR9* вносит свой вклад в защиту клеток от избыточного стресса при септическом шоке.

Не исключено, что неблагоприятный эффект аллелей GG *NRF2* (rs6726395) у больных с критическими состояниями и инфекцией обусловлен более сложными механизмами активации экспрессии *NRF2*. С одной стороны, транскрипционный фактор *NRF2* индуцирует экспрессию антиоксидантных ферментов, защищая клетки от окислительного стресса. С другой стороны, имеются данные о том, что при достижении определенного критического порога содержания ROS в клетке, *NRF2* стимулирует экспрессию транскрипционного фактора Krippel-подобного фактора 9 (KLF9), что приводит к дальнейшему увеличению продукции ROS и гибели клетки [57]. Не исключено, что предполагаемая повышенная активность *NRF2* у больных генотипа *NRF2* 177238501A>G GG (rs6726395) с септическим шоком парадоксально приводит к чрезмерной продукции ROS, способствующей развитию более выраженной полиорганной недостаточности и летальному исходу. Интересно, что анализ данных показал тенденцию к более низким значениям по шкале SOFA у больных с комбинацией аллелей *TLR9* 52218953T>C CC *NRF2* 177238501A>G GG по сравнению со значениями SOFA у больных с другими генотипами (средние значения SOFA (со стандартной ошибкой) составили: 5,739 ± 0,4 в группе больных с генотипами *TLR9* 52218953T>C CT, TT/*NRF2* 177238501A>G AG, AA и 4,9 ± 0,7 в группе больных с генотипом *TLR9* 52218953T>C CC/*NRF2* 177238501A>G GG, соответственно, P>0,05). Эти данные подтверждают положение о том, что данная комбинация является благоприятной для течения критических состояний. Дальнейшие исследования с использованием большего числа пациентов помогут подтвердить клиническое значе-

ние данной комбинации для течения и исхода критических состояний.

Будущие исследования количественных различий по уровню экспрессии *TLR9*, молекулярных мишеней *NRF2* и ряда других генов в клетках больных с септическим шоком, отличающихся по аллельным вариантам этих локусов, позволит более точно выяснить механизм цитопротективного действия комбинации аллелей при септическом шоке и определить новые потенциальные молекулярные мишени, воздействие на которые поможет снизить неблагоприятные исходы критических состояний, осложненных инфекцией.

Future studies of quantitative differences in the level of expression of *TLR9*, molecular targets *NRF2*, and other genes in the cells of septic shock patients, differed by on allele variants of these loci, should detail the mechanism of cytoprotection by combination of alleles in septic shock patients and determine novel potential molecular targets to decrease the unfavorable outcomes in infection-associated critical illness.

## Conclusion

The data suggest that allele variants *NRF2* rs6726395 (177238501A>G) and *TLR9* rs352162 (52218953T>C) are candidate predictive markers of the course and outcome of critical illness complicated by infection:

- 1) *NRF2* 177238501A>G GG is associated with higher mortality during septic shock compared to carriers of genotypes *NRF2* 177238501A>G AG, AA;
- 2) *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC combination of genotypes protects against the development of septic shock and nosocomial pneumonia.

**The study was in part supported by RFBR grant No.16-04-01541 (to V. M. Pisarev).**



## Заклучение

Полученные данные позволяют полагать, что аллельные варианты *NRF2* rs6726395 и *TLR9* rs352162 являются кандидатными прогностическими маркерами течения и исхода критических состояний, осложненных инфекцией:

1) *NRF2* 177238501A>G GG ассоциируется с повышенной смертностью при септическом шоке

по сравнению с носителями генотипов *NRF2* 177238501A>G AG, AA;

2) комбинация генотипов *NRF2* 177238501A>G GG/*TLR9* 52218953T>C CC защищает от развития септического шока и нозокомальной пневмонии.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 16-04-01541 (руководитель — В. М. Писарев).

## Литература

1. *Belopolskaya O.B., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Salnikova L.E.* Clinical associations of host genetic variations in the genes of cytokines in critically ill patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2015; 180 (3): 531-541. <http://dx.doi.org/10.1111/cei.12592>. PMID: 25619315
2. *Мороз В.В., Смелая Т.В., Голубев А.М., Сальникова Л.Е.* Генетика и медицина критических состояний: от теории к практике. *Общая реаниматология.* 2012; 8 (4): 5-12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-5>
3. *Смелая Т.В., Сальникова Л.Е., Мороз В.В., Голубев А.М., Зарзхетский Ю.В., Рубанович А.В.* Генетический полиморфизм и частота развития осложнений при пневмонии различного генеза. *Общая реаниматология.* 2011; 7 (2): 10-16. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-2-10>
4. *Сальникова Л.Е., Смелая Т.В., Мороз В.В., Голубев А.М., Лаптева Н.Ш., Порошенко Г.Г., Рубанович А.В.* Генетическая предрасположенность к развитию острой внебольничной пневмонии. *Общая реаниматология.* 2010; 6 (1): 5-10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-1-5>
5. *Сальникова Л.Е., Смелая Т.В., Мороз В.В., Голубев А.М., Понасенков Н.Х., Хоменко Р.В., Харламова И.В., Лаптева Н.Ш., Кузнецова Г.И., Порошенко Г.Г., Рубанович А.В.* Гены детоксикации ксенобиотиков и их роль в развитии пневмонии. *Общая реаниматология.* 2008; 4 (6): 9-15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2008-6-9>
6. *Смелая Т.В., Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е.* Молекулярно-генетические маркеры нозокомальной пневмонии остро респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (3): 24-38. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-24-38>
7. *Устьянцева И.М., Хохлова О.И., Петухова О.В., Жевлакова Ю.А., Крайцова А.С., Агаджанян К.В.* Некоторые аспекты формирования системного воспалительного ответа у больных в критическом состоянии. *Общая реаниматология.* 2010; 6 (1): 56-59. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-1-56>
8. *Shintani Y., Kapoor A., Kaneko M., Smolenski R.T., D'Acquisto F., Coppen S.R., Harada-Shoji N., Lee H.J., Thiemermann C., Takashima S., Yashiro K., Suzuki K.* TLR9 mediates cellular protection by modulating energy metabolism in cardiomyocytes and neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2013; 110 (13): 5109-5114. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1219243110>. PMID: 23479602
9. *Grunwell J.R., Weiss S.L., Cvijanovich N.Z., Allen G.L., Thomas N.J., Freishtat R.J., Anas N., Meyer K., Checchia P.A., Shanley T.P., Bigham M.T., Fitzgerald J., Howard K., Frank E., Harmon K., Wong H.R.* Differential expression of the Nrf2-linked genes in pediatric septic shock. *Crit. Care.* 2015; 19: 327. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-015-1052-0>. PMID: 26376786
10. *Chen K.H., Zeng L., Gu W., Zhou J., Du D.Y., Jiang J.X.* Polymorphisms in the toll-like receptor 9 gene associated with sepsis and multiple organ dysfunction after major blunt trauma. *Br. J. Surg.* 2011; 98 (9): 1252-1259. <http://dx.doi.org/10.1002/bjs.7532>. PMID: 21633947
11. *Cho H.Y., Kleeberger S.R.* Noblesse oblige: NRF2 functions in the airways. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014; 50 (5): 844-847. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2014-0116PS>. PMID: 24783956
12. *Khunluck T., Kukongviriyapan V., Puapairoj A., Khuntikeo N., Senggunprai L., Zeekpudsa P., Prawan A.* Association of NRF2 polymorphism with cholangiocarcinoma prognosis in Thai patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15 (1): 299-304. <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.1.299>. PMID: 24528044
13. *Sasaki H., Suzuki A., Shitara M., Hikosaka Y., Okuda K., Moriyama S., Yano M., Fujii Y.* Polymorphisms of NRF2 gene correlated with decreased FEV1 in lung cancers of smokers. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (3): 484-488. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2013.83>. PMID: 24648973
14. *Synowiec E., Sliwinski T., Danisz K., Blasiak J., Sklodowska A., Romaniuk D., Watala C., Szaflik J.P.* Association between polymorphism of the NQO1, NOS3 and NFE2L2 genes and AMD. *Front. Biosci. (Landmark Ed.)* 2013; 18: 80-90. PMID: 23276910

## References

1. *Belopolskaya O.B., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Salnikova L.E.* Clinical associations of host genetic variations in the genes of cytokines in critically ill patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2015; 180 (3): 531-541. <http://dx.doi.org/10.1111/cei.12592>. PMID: 25619315
2. *Moroz V.V., Smelaya T.V., Golubev A.M., Salnikova L.E.* Genetika i meditsina kriticheskikh sostoyanii: ot teorii k praktike. *Obshchaya Reanimatologia.* [Genetics and medicine of critical conditions: from theory to practice. *General Reanimatology.*] 2012; 8 (4): 5-12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-5>. [In Russ.]
3. *Smelaya T.V., Salnikova L.E., Moroz V.V., Golubev A.M., Zarzhetsky Yu.V., Rubanovich A.V.* Genetichesky polimorfizm i chastota razvitiya oslozhnenii pri pnevmonii razlichnogo genеза. *Obshchaya Reanimatologia.* [Genetic polymorphism and the rate of development of complications in pneumonia of varying genesis. *General Reanimatology.*] 2011; 7 (2): 10-16. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-2-10>. [In Russ.]
4. *Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Lapteva N.Sh., Poroshenko G.G., Rubanovich A.V.* Geneticheskaya predispolozhenost k razvitiyu ostroi vnebolnichnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologia.* [Genetic predisposition to the development of acute community-acquired pneumonia. *General Reanimatology.*] 2010; 6 (1): 5-10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-1-5>. [In Russ.]
5. *Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Ponasenkov N.Kh., Khomenko R.V., Kharlamova I.V., Lapteva N.Sh., Kuznetsova G.I., Poroshenko G.G., Rubanovich A.V.* Geny detoksikatsii ksenobiotikov i ikh rol v razvitiu pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologia.* [Xenobiotic detoxification genes and their role in the development of pneumonia. *General Reanimatology.*] 2008; 4 (6): 9-15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2008-6-9>. [In Russ.]
6. *Smelaya T.V., Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Belopolskaya O.B., Salnikova L.E.* Molekulyarno-geneticheskie markery nozokomialnoi pnevmonii ostrogo respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Search for common molecular genetic markers of nosocomial pneumonia and acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology.*] 2015; 11 (3): 24-38. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-24-38>. [In Russ.]
7. *Ustyantseva I.M., Khokhlova O.I., Petukhova O.V., Zhevlaкова Yu.A., Kravtsova A.S., Agadzhanian K.V.* Nekotorye aspekty formirovaniya sistemnogo vospalitel'nogo otveta u bolnykh v kriticheskom sostoyanii. *Obshchaya Reanimatologia.* [Some aspects of formation of a systemic inflammatory response in critically ill patients. *General Reanimatology.*] 2010; 6 (1): 56-59. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-1-56>. [In Russ.]
8. *Shintani Y., Kapoor A., Kaneko M., Smolenski R.T., D'Acquisto F., Coppen S.R., Harada-Shoji N., Lee H.J., Thiemermann C., Takashima S., Yashiro K., Suzuki K.* TLR9 mediates cellular protection by modulating energy metabolism in cardiomyocytes and neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2013; 110 (13): 5109-5114. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1219243110>. PMID: 23479602
9. *Grunwell J.R., Weiss S.L., Cvijanovich N.Z., Allen G.L., Thomas N.J., Freishtat R.J., Anas N., Meyer K., Checchia P.A., Shanley T.P., Bigham M.T., Fitzgerald J., Howard K., Frank E., Harmon K., Wong H.R.* Differential expression of the Nrf2-linked genes in pediatric septic shock. *Crit. Care.* 2015; 19: 327. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-015-1052-0>. PMID: 26376786
10. *Chen K.H., Zeng L., Gu W., Zhou J., Du D.Y., Jiang J.X.* Polymorphisms in the toll-like receptor 9 gene associated with sepsis and multiple organ dysfunction after major blunt trauma. *Br. J. Surg.* 2011; 98 (9): 1252-1259. <http://dx.doi.org/10.1002/bjs.7532>. PMID: 21633947
11. *Cho H.Y., Kleeberger S.R.* Noblesse oblige: NRF2 functions in the airways. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014; 50 (5): 844-847. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2014-0116PS>. PMID: 24783956
12. *Khunluck T., Kukongviriyapan V., Puapairoj A., Khuntikeo N., Senggunprai L., Zeekpudsa P., Prawan A.* Association of NRF2 polymorphism with cholangiocarcinoma prognosis in Thai patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15 (1): 299-304. <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.1.299>. PMID: 24528044

15. Marzec J.M., Christie J.D., Reddy S.P., Jedlicka A.E., Vuong H., Lancken P.N., Aplenc R., Yamamoto T., Yamamoto M., Cho H.Y., Kleeberger S.R. Functional polymorphisms in the transcription factor NRF2 in humans increase the risk of acute lung injury. *FASEB J.* 2007; 21 (9): 2237-2246. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.06-7759com>. PMID: 17384144
16. Yang S.I., Kim B.J., Lee S.Y., Kim H.B., Lee C.M., Yu J., Kang M.J., Yu H.S., Lee E., Jung Y.H., Kim H.Y., Seo J.H., Kwon J.W., Song D.J., Jang G., Kim W.K., Shim J.Y., Lee S.Y., Yang H.J., Suh D.I., Hong S.A., Choi K.Y., Shin Y.H., Ahn K., Kim K.W., Kim E.J., Hong S.J.; COCOA Study Group. Prenatal particulate matter/tobacco smoke increases infants' respiratory infections: COCOA Study. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2015; 7 (6): 573-582. <http://dx.doi.org/10.4168/aaair.2015.7.6.573>. PMID: 26333704
17. Figarska S.M., Vonk J.M., Boezen H.M. NFE2L2 polymorphisms, mortality, and metabolism in the general population. *Physiol. Genomics.* 2014; 46 (12): 411-417. <http://dx.doi.org/10.1152/physiolgenomics.00178.2013>. PMID: 24790085
18. Мороз В.В., Кузовлев А.Н., Голубев А.М., Стец В.В., Половников С.Г. Респираторная поддержка в безопасном режиме при нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (2): 6-17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-2-6-17>
19. Мороз В.В., Бобринская И.Г., Васильев В.Ю., Спиридонова Е.А., Тишков Е.А., Голубев А.М. Шок. Учебно-методическое пособие. М.: НИИ ОР им. В.А. Неговского РАМН; 2014: 31.
20. Мороз В.В., Голубев А.М. Классификация острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология.* 2007; 3 (5-6): 7-9. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-6-7-9>
21. Мороз В.В., Голубев А.М. Принципы диагностики ранних проявлений острого повреждения легких. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (4): 5-7. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-4-5-7>
22. Ziliene V., Kondrotas A.J., Kevelaitis E. Etiology and pathogenesis of acute respiratory failure. *Medicina (Kaunas).* 2004; 40 (3): 286-294. PMID: 15064552
23. Bernard G.R., Artigas A., Brigham K.L., Carlet J., Falke K., Hudson L., Lamy M., LeGall J.R., Morris A., Spragg R. Report of the American-European consensus conference on acute respiratory distress syndrome: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Consensus Committee. *J. Crit. Care.* 1994; 9 (1): 72-81. [http://dx.doi.org/10.1016/0883-9441\(94\)90033-7](http://dx.doi.org/10.1016/0883-9441(94)90033-7). PMID: 8199655
24. Lew T.W., Kwek T.K., Tai D., Earnest A., Loo S., Singh K., Kwan K.M., Chan Y., Yim C.F., Bek S.L., Kor A.C., Yap W.S., Chelliah Y.R., Lai Y.C., Goh S.K. Acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with severe acute respiratory syndrome. *JAMA.* 2003; 290 (3): 374-380. PMID: 12865379
25. Pugin J., Auckenthaler R., Mili N., Janssens J.P., Lew P.D., Suter P.M. Diagnosis of ventilator associated pneumonia by bacteriological analysis of bronchoscopic and non bronchoscopic «blind» bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991; 143 (5 Pt 1): 1121-1129. [http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm/143.5\\_Pt\\_1.1121](http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121). PMID: 2024824
26. Чучалин А.Г., Гельфанд Б.Р. (ред.). Нозокомиальная пневмония у взрослых. Российские национальные рекомендации. М.; 2009: 92.
27. Tablan O.C., Anderson L.J., Besser R., Bridges C., Hajjeh R.; CDC; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm. Rep.* 2004; 53 (RR-3): 1-36. PMID: 15048056
28. Гельфанд Б.Р., Яковлев С.В., Проценко Д.Н., Белоцерковский Б.З. Нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких: возможна ли стандартизация терапии? *Consilium Medicum.* 2004; 6 (4): 245-248.
29. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
30. Hamajima N. PCR-STPP: a new genotyping technique in the era of genetic epidemiology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2001; 1 (1): 119-123. <http://dx.doi.org/10.1586/14737159.1.1.119>. PMID: 11901796
31. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Абилов С.К., Рубанович А.В. Соматический мутагенез в лимфоцитах человека в зависимости от генотипов по локусам детоксикации и оксидативного ответа. *Генетика.* 2010; 46 (12): 1678-1684. PMID: 21434421
32. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Кузнецова Г.И., Абилов С.К., Рубанович А.В. Полиморфизм генов репарации и цитогенетические эффекты облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010; 50 (6): 656-662. PMID: 21434392
33. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Лаптева Н.Ш., Веснина И.Н., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В. Аллельные варианты полиморфных генов, сопряженные с повышенной частотой хромосомных aberrаций. *Генетика.* 2011; 47 (11): 1536-1544. PMID: 22332411
34. Макаров О.В., Камоева С.В., Хаджиева М.Б., Иванова А.В., Чумаченко А.Г., Абилов С.К., Сальникова Л.Е. Связь полиморфизма гена FBLN5 с риском развития пролапсатозовых органов у женщин с
35. Sasaki H., Suzuki A., Shitara M., Hikosaka Y., Okuda K., Moriyama S., Yano M., Fujii Y. Polymorphisms of NRF2 gene correlated with decreased FEV1 in lung cancers of smokers. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (3): 484-488. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2013.83>. PMID: 24648973
36. Synowicz E., Sliwinski T., Danisz K., Blasiak J., Sklodowska A., Romaniuk D., Watala C., Szaflik J., Szaflik J.P. Association between polymorphism of the NQO1, NOS3 and NFE2L2 genes and AMD. *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2013; 18: 80-90. PMID: 23276910
37. Marzec J.M., Christie J.D., Reddy S.P., Jedlicka A.E., Vuong H., Lancken P.N., Aplenc R., Yamamoto T., Yamamoto M., Cho H.Y., Kleeberger S.R. Functional polymorphisms in the transcription factor NRF2 in humans increase the risk of acute lung injury. *FASEB J.* 2007; 21 (9): 2237-2246. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.06-7759com>. PMID: 17384144
38. Yang S.I., Kim B.J., Lee S.Y., Kim H.B., Lee C.M., Yu J., Kang M.J., Yu H.S., Lee E., Jung Y.H., Kim H.Y., Seo J.H., Kwon J.W., Song D.J., Jang G., Kim W.K., Shim J.Y., Lee S.Y., Yang H.J., Suh D.I., Hong S.A., Choi K.Y., Shin Y.H., Ahn K., Kim K.W., Kim E.J., Hong S.J.; COCOA Study Group. Prenatal particulate matter/tobacco smoke increases infants' respiratory infections: COCOA Study. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2015; 7 (6): 573-582. <http://dx.doi.org/10.4168/aaair.2015.7.6.573>. PMID: 26333704
39. Figarska S.M., Vonk J.M., Boezen H.M. NFE2L2 polymorphisms, mortality, and metabolism in the general population. *Physiol. Genomics.* 2014; 46 (12): 411-417. <http://dx.doi.org/10.1152/physiolgenomics.00178.2013>. PMID: 24790085
40. Moroz V.V., Kuzovlev A.N., Golubev A.M., Stets V.V., Polovnikov S.G. Respiratornaya podderzhka v bezopasnom rezhime pri nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologia.* [Safety-mode respiratory support in nosocomial pneumonia. *General Reanimatology.*] 2015; 11 (2): 6-17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-2-6-17>. [In Russ.]
41. Moroz V.V., Bobrinskaya I.G., Vasilyev V.Yu., Spiridonova E.A., Tishkov E.A., Golubev A.M. Shok. Uchebno-metodicheskoe posobie. [Shock. Study manual]. Moscow: NII OR imeni V.A.Negovskogo RAMN; 2014: 31. [In Russ.]
42. Moroz V.V., Golubev A.M. Klassifikatsiya ostrogo respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologia.* [Classification of acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology.*] 2007; 3 (5-6): 7-9. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-6-7-9>. [In Russ.]
43. Moroz V.V., Golubev A.M. Printsipy diagnostiki rannikh proyavlenii ostrogo povrezhdeniya legkikh. *Obshchaya Reanimatologia.* [Principles in the diagnosis of early manifestations of acute lung lesion. *General Reanimatology.*] 2006; 2 (4): 5-7. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-4-5-7>. [In Russ.]
44. Ziliene V., Kondrotas A.J., Kevelaitis E. Etiology and pathogenesis of acute respiratory failure. *Medicina (Kaunas).* 2004; 40 (3): 286-294. PMID: 15064552
45. Bernard G.R., Artigas A., Brigham K.L., Carlet J., Falke K., Hudson L., Lamy M., LeGall J.R., Morris A., Spragg R. Report of the American-European consensus conference on acute respiratory distress syndrome: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Consensus Committee. *J. Crit. Care.* 1994; 9 (1): 72-81. [http://dx.doi.org/10.1016/0883-9441\(94\)90033-7](http://dx.doi.org/10.1016/0883-9441(94)90033-7). PMID: 8199655
46. Lew T.W., Kwek T.K., Tai D., Earnest A., Loo S., Singh K., Kwan K.M., Chan Y., Yim C.F., Bek S.L., Kor A.C., Yap W.S., Chelliah Y.R., Lai Y.C., Goh S.K. Acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with severe acute respiratory syndrome. *JAMA.* 2003; 290 (3): 374-380. PMID: 12865379
47. Pugin J., Auckenthaler R., Mili N., Janssens J.P., Lew P.D., Suter P.M. Diagnosis of ventilator associated pneumonia by bacteriological analysis of bronchoscopic and non bronchoscopic «blind» bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991; 143 (5 Pt 1): 1121-1129. [http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm/143.5\\_Pt\\_1.1121](http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121). PMID: 2024824
48. Чучалин А.Г., Гельфанд Б.Р. (ред.). Нозокомиальная пневмония у взрослых. Российские национальные рекомендации. М.; 2009: 92.
49. Tablan O.C., Anderson L.J., Besser R., Bridges C., Hajjeh R.; CDC; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm. Rep.* 2004; 53 (RR-3): 1-36. PMID: 15048056
50. Гельфанд Б.Р., Яковлев С.В., Проценко Д.Н., Белоцерковский Б.З. Нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких: возможна ли стандартизация терапии? *Consilium Medicum.* 2004; 6 (4): 245-248.
51. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
52. Hamajima N. PCR-STPP: a new genotyping technique in the era of genetic epidemiology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2001; 1 (1): 119-123. <http://dx.doi.org/10.1586/14737159.1.1.119>. PMID: 11901796
53. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Акаева Э.А., Кузнецова Г.И., Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Абилов С.К., Рубанович А.В. Соматический мутагенез в лимфоцитах человека в зависимости от генотипов по локусам детоксикации и оксидативного ответа. *Генетика.* 2010; 46 (12): 1678-1684. PMID: 21434421
54. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Кузнецова Г.И., Абилов С.К., Рубанович А.В. Полиморфизм генов репарации и цитогенетические эффекты облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010; 50 (6): 656-662. PMID: 21434392
55. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Лаптева Н.Ш., Веснина И.Н., Кузнецова Г.И., Рубанович А.В. Аллельные варианты полиморфных генов, сопряженные с повышенной частотой хромосомных aberrаций. *Генетика.* 2011; 47 (11): 1536-1544. PMID: 22332411
56. Макаров О.В., Камоева С.В., Хаджиева М.Б., Иванова А.В., Чумаченко А.Г., Абилов С.К., Сальникова Л.Е. Связь полиморфизма гена FBLN5 с риском развития пролапсатозовых органов у женщин с



## Original Observation

- травмами мягких родовых путей. *Акушерство и гинекология*. 2015; 1: 42-50.
35. Newton C.R., Graham A., Heptinstall L.E., Powell S.J., Summers C., Kalsheker N., Smith J.C., Markham A.F. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* 1989; 17 (7): 2503-2516. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/17.7.2503>. PMID: 2785681
  36. Pujol-Lereis L.M., Schäfer N., Kuhn L.B., Rohrer B., Pauly D. Interrelation between oxidative stress and complement activation in models of age-related macular degeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 854: 87-93. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-17121-0\\_13](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-17121-0_13). PMID: 26427398
  37. Aleksunes L.M., Manautou J.E. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. *Toxicol. Pathol.* 2007; 35 (4): 459-473. <http://dx.doi.org/10.1080/01926230701311344>. PMID: 17562481
  38. Duran-Bedolla J., Montes de Oca-Sandoval M.A., Saldaña-Navor V., Villalobos-Silva J.A., Rodriguez M.C., Rivas-Arancibia S. Sepsis, mitochondrial failure and multiple organ dysfunction. *Clin. Invest. Med.* 2014; 37 (2): E58-E69. PMID: 24690420
  39. Masuko H., Sakamoto T., Kaneko Y., Iijima H., Naito T., Noguchi E., Hirota T., Tamari M., Hizawa N. An interaction between Nrf2 polymorphisms and smoking status affects annual decline in FEV1: a longitudinal retrospective cohort study. *BMC Med. Genet.* 2011; 12: 97. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-12-97>. PMID: 21774808
  40. Zhao G.J., Chen X., Li X.L., Yu Y.J., Hong G.L., Qiu Q.M., Li M.F., Lu Z.Q. Functional polymorphism of NRF2 gene promoter -617C/A in lipopolysaccharide-stimulated peripheral blood mononuclear cellular inflammatory response in patients with alcoholic liver disease. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2013; 52 (7): 581-584. PMID: 24267001
  41. Qiu Q.M., Zheng J.T., Nan C., Zhao Y.Y., Zhao G.J., Hong G.L., Liang H., Li M.F., Lu Z.Q. Effects of NF-E2-related factor-2 promoter polymorphism on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in macrophages. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2013; 93 (14): 1114-1117. PMID: 23902849
  42. Song Q., Li S., Lu Y., Hong G., Zhao G., Qiu Q., Li M., Lu Z. An association between NF-E2-related factor 2-617 C/A gene polymorphisms and sepsis in Chinese Han population. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2014; 53 (6): 442-445. PMID: 25146510
  43. Zuo H.P., Zhao Y.Y., Qiu Q.M., Lu Z.Q., Hong G.L., Li M.F. The effects of NF-E2-related factor-2 promoter polymorphism on alcoholic liver disease with *Vibrio vulnificus* sepsis. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2011; 45 (8): 702-706. PMID: 22169690
  44. Shintani Y., Drexler H.C., Kioka H., Terracciano C.M., Coppen S.R., Imamura H., Akao M., Nakai J., Wheeler A.P., Higo S., Nakayama H., Takashima S., Yashiro K., Suzuki K. Toll-like receptor 9 protects non-immune cells from stress by modulating mitochondrial ATP synthesis through the inhibition of SERCA2. *EMBO Rep.* 2014; 15 (4): 438-445. <http://dx.doi.org/10.1002/embr.201337945>. PMID: 24610369
  45. <http://www.sanger.ac.uk/science/tools/genevar-gene-expression-variation-archive>
  46. Ishii Y., Itoh K., Morishima Y., Kimura T., Kiwamoto T., Izuka T., Hegab A.E., Hosoya T., Nomura A., Sakamoto T., Yamamoto M., Sekizawa K. Transcription factor Nrf2 plays a pivotal role in protection against elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. *J. Immunol.* 2005; 175 (10): 6968-6975. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.175.10.6968>. PMID: 16272357
  47. Suzuki M., Betsuyaku T., Ito Y., Nagai K., Nasuhara Y., Kaga K., Kondo S., Nishimura M. Down-regulated NF-E2-related factor 2 in pulmonary macrophages of aged smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008; 39 (6): 673-682. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2007-0424OC>. PMID: 18566336
  48. Chen H., Fang Y., Li W., Orlando R.C., Shaheen N., Chen X.L. NFkB and Nrf2 in esophageal epithelial barrier function. *Tissue Barriers.* 2013; 1 (5): e27463. <http://dx.doi.org/10.4161/tisb.27463>. PMID: 24790804
  49. Kovac S., Angelova P.R., Holmström K.M., Zhang Y., Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y. Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1850 (4): 794-801. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.021>. PMID: 25484314
  50. Liu W., Wu H., Chen L., Wen Y., Kong X., Gao W.Q. Park7 interacts with p47(phox) to direct NADPH oxidase-dependent ROS production and protect against sepsis. *Cell Res.* 2015; 25 (6): 691-706. <http://dx.doi.org/10.1038/cr.2015.63>. PMID: 26021615
  51. Benmohamed F., Medina M., Wu Y.Z., Maschalidi S., Jouvion G., Guillemot L., Chignard M., Manoury B., Touqui L. Toll-like receptor 9 deficiency protects mice against *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *PLoS One.* 2014; 9 (3): e90466. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090466>. PMID: 24595157
  52. Osburn W.O., Kensler T.W. Nrf2 signaling: an adaptive response pathway for protection against environmental toxic insults. *Mutat. Res.* 2008; 659 (1-2): 31-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrrev.2007.11.006>. PMID: 18164232
  - lokusam detoksikatsii i oksidativnogo otveta. [Somatic mutagenesis in human lymphocytes depending on genotypes for detoxification and oxidative response loci]. *Genetika.* 2010; 46 (12): 1678-1684. PMID: 21434421. [In Russ.]
  32. Salnikova L.E., Chumachenko A.G., Vesnina I.N., Lapteva N.Sh., Kuznetsova G.I., Abilev S.K., Rubanovich A.V. Polimorfizm genov reparatsii i tsitogeneticheskie efekty obluheniya. [Polymorphism of repair genes and cytogenetic radiation effects]. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya.* 2010; 50 (6): 656-662. PMID: 21434392. [In Russ.]
  33. Salnikova L.E., Chumachenko A.G., Lapteva N.S., Vesnina I.N., Kuznetsova G.I., Rubanovich A.V. Allelnye varianty polimorfnykh genov, sopryazhennye s povyshennoi chastotoi khromosomnykh aberatsii. [Allelic variants of polymorphic genes associated with a higher frequency of chromosome aberrations]. *Genetika.* 2011; 47 (11): 1536-1544. PMID: 22332411. [In Russ.]
  34. Makarov O.V., Kamoeva S.V., Khadzheva M.B., Ivanova A.V., Chumachenko A.G., Abilev S.K., Salnikova L.E. Svyaz polimorfizma gena FBLN5 s riskom razvitiya prolapsatazovyykh organov u zhenshin s travmami myagkikh rodovykh putei. [Association of FBLN5 gene polymorphism with a risk for pelvic organ prolapse in women with soft tissue injuries in the generative passage]. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2015; 1: 42-50. [In Russ.]
  35. Newton C.R., Graham A., Heptinstall L.E., Powell S.J., Summers C., Kalsheker N., Smith J.C., Markham A.F. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* 1989; 17 (7): 2503-2516. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/17.7.2503>. PMID: 2785681
  36. Pujol-Lereis L.M., Schäfer N., Kuhn L.B., Rohrer B., Pauly D. Interrelation between oxidative stress and complement activation in models of age-related macular degeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 854: 87-93. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-17121-0\\_13](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-17121-0_13). PMID: 26427398
  37. Aleksunes L.M., Manautou J.E. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. *Toxicol. Pathol.* 2007; 35 (4): 459-473. <http://dx.doi.org/10.1080/01926230701311344>. PMID: 17562481
  38. Duran-Bedolla J., Montes de Oca-Sandoval M.A., Saldaña-Navor V., Villalobos-Silva J.A., Rodriguez M.C., Rivas-Arancibia S. Sepsis, mitochondrial failure and multiple organ dysfunction. *Clin. Invest. Med.* 2014; 37 (2): E58-E69. PMID: 24690420
  39. Masuko H., Sakamoto T., Kaneko Y., Iijima H., Naito T., Noguchi E., Hirota T., Tamari M., Hizawa N. An interaction between Nrf2 polymorphisms and smoking status affects annual decline in FEV1: a longitudinal retrospective cohort study. *BMC Med. Genet.* 2011; 12: 97. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-12-97>. PMID: 21774808
  40. Zhao G.J., Chen X., Li X.L., Yu Y.J., Hong G.L., Qiu Q.M., Li M.F., Lu Z.Q. Functional polymorphism of NRF2 gene promoter -617C/A in lipopolysaccharide-stimulated peripheral blood mononuclear cellular inflammatory response in patients with alcoholic liver disease. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2013; 52 (7): 581-584. PMID: 24267001
  41. Qiu Q.M., Zheng J.T., Nan C., Zhao Y.Y., Zhao G.J., Hong G.L., Liang H., Li M.F., Lu Z.Q. Effects of NF-E2-related factor-2 promoter polymorphism on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in macrophages. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2013; 93 (14): 1114-1117. PMID: 23902849
  42. Song Q., Li S., Lu Y., Hong G., Zhao G., Qiu Q., Li M., Lu Z. An association between NF-E2-related factor 2-617 C/A gene polymorphisms and sepsis in Chinese Han population. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2014; 53 (6): 442-445. PMID: 25146510
  43. Zuo H.P., Zhao Y.Y., Qiu Q.M., Lu Z.Q., Hong G.L., Li M.F. The effects of NF-E2-related factor-2 promoter polymorphism on alcoholic liver disease with *Vibrio vulnificus* sepsis. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2011; 45 (8): 702-706. PMID: 22169690
  44. Shintani Y., Drexler H.C., Kioka H., Terracciano C.M., Coppen S.R., Imamura H., Akao M., Nakai J., Wheeler A.P., Higo S., Nakayama H., Takashima S., Yashiro K., Suzuki K. Toll-like receptor 9 protects non-immune cells from stress by modulating mitochondrial ATP synthesis through the inhibition of SERCA2. *EMBO Rep.* 2014; 15 (4): 438-445. <http://dx.doi.org/10.1002/embr.201337945>. PMID: 24610369
  45. <http://www.sanger.ac.uk/science/tools/genevar-gene-expression-variation-archive>
  46. Ishii Y., Itoh K., Morishima Y., Kimura T., Kiwamoto T., Izuka T., Hegab A.E., Hosoya T., Nomura A., Sakamoto T., Yamamoto M., Sekizawa K. Transcription factor Nrf2 plays a pivotal role in protection against elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. *J. Immunol.* 2005; 175 (10): 6968-6975. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.175.10.6968>. PMID: 16272357
  47. Suzuki M., Betsuyaku T., Ito Y., Nagai K., Nasuhara Y., Kaga K., Kondo S., Nishimura M. Down-regulated NF-E2-related factor 2 in pulmonary macrophages of aged smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008; 39 (6): 673-682. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2007-0424OC>. PMID: 18566336
  48. Chen H., Fang Y., Li W., Orlando R.C., Shaheen N., Chen X.L. NFkB and Nrf2 in esophageal epithelial barrier function. *Tissue Barriers.* 2013; 1 (5): e27463. <http://dx.doi.org/10.4161/tisb.27463>. PMID: 24790804
  49. Kovac S., Angelova P.R., Holmström K.M., Zhang Y., Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y. Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1850 (4): 794-801. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.021>. PMID: 25484314
  50. Liu W., Wu H., Chen L., Wen Y., Kong X., Gao W.Q. Park7 interacts with p47(phox) to direct NADPH oxidase-dependent ROS production and protect against sepsis. *Cell Res.* 2015; 25 (6): 691-706. <http://dx.doi.org/10.1038/cr.2015.63>. PMID: 26021615
  51. Benmohamed F., Medina M., Wu Y.Z., Maschalidi S., Jouvion G., Guillemot L., Chignard M., Manoury B., Touqui L. Toll-like receptor 9 deficiency protects mice against *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *PLoS One.* 2014; 9 (3): e90466. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090466>. PMID: 24595157
  52. Osburn W.O., Kensler T.W. Nrf2 signaling: an adaptive response pathway for protection against environmental toxic insults. *Mutat. Res.* 2008; 659 (1-2): 31-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrrev.2007.11.006>. PMID: 18164232

53. *Hai Dang N., Choo Y.Y., Tien Dat N., Hoai Nam N., Van Minh C., Lee J.H.* 7-Methoxy-(9H- $\beta$ -carbolin-1-yl)-(E)-1-propenoic acid, a  $\beta$ -carboline alkaloid from *Eurycoma longifolia*, exhibits anti-inflammatory effects by activating the Nrf2/heme oxygenase-1 pathway. *J. Cell Biochem.* 2016; 117 (3): 659-670. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.25315>. PMID: 26291957
54. *Lim R., Barker G., Lappas M.* The transcription factor Nrf2 is decreased after spontaneous term labour in human fetal membranes where it exerts anti-inflammatory properties. *Placenta.* 2015; 36 (1): 7-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2014.11.004>. PMID: 25468547
55. *Li H., Zhao J., Chen M., Tan Y., Yang X., Caudle Y., Yin D.* Toll-like receptor 9 is required for chronic stress-induced immunosuppression. *Neuroimmunomodulation.* 2014; 21 (1): 1-7. <http://dx.doi.org/10.1159/000354610>. PMID: 24080854
56. *Rose W.A. 2nd, Sakamoto K., Leifer C.A.* TLR9 is important for protection against intestinal damage and for intestinal repair. *Sci. Rep.* 2012; 2: 574. <http://dx.doi.org/10.1038/srep00574>. PMID: 22893852
57. *Zucker S.N., Fink E.E., Bagati A., Mannava S., Bianchi-Smiraglia A., Bogner P.N., Wawrzyniak J.A., Foley C., Leonova K.I., Grimm M.J., Moparthy K., Ionov Y., Wang J., Liu S., Sexton S., Kandel E.S., Bakin A.V., Zhang Y., Kaminski N., Segal B.H., Nikiforov M.A.* Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9. *Mol. Cell.* 2014; 53 (6): 916-928. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2014.01.033>. PMID: 24613345
- Поступила 19.03.16**
- <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2007-0424OC>. PMID: 18566336
48. *Chen H., Fang Y., Li W., Orlando R.C., Shaheen N., Chen X.L.* Nfkb and Nrf2in esophageal epithelial barrier function. *Tissue Barriers.* 2013; 1 (5): e27463. <http://dx.doi.org/10.4161/tisb.27463>. PMID: 24790804
49. *Kovac S., Angelova P.R., Holmström K.M., Zhang Y., Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y.* Nrf2 regulates ROSproduction by mitochondria and NADPH oxidase. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1850 (4): 794-801. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.021>. PMID: 25484314
50. *Liu W., Wu H., Chen L., Wen Y., Kong X., Gao W.Q.* Park7 interacts with p47(phox) to direct NADPH oxidase-dependent ROSproduction and protect against sepsis. *Cell Res.* 2015; 25 (6): 691-706. <http://dx.doi.org/10.1038/cr.2015.63>. PMID: 26021615
51. *Benmohamed F., Medina M., Wu Y.Z., Maschalidi S., Jouvion G., Guillemot L., Chignard M., Manoury B., Touqui L.* Toll-like receptor 9 deficiency protects mice against *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *PLoS One.* 2014; 9 (3): e90466. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090466>. PMID: 24595157
52. *Osburn W.O., Kensler T.W.* Nrf2 signaling: an adaptive response pathway for protection against environmental toxic insults. *Mutat. Res.* 2008; 659 (1-2): 31-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.11.006>. PMID: 18164232
53. *Hai Dang N., Choo Y.Y., Tien Dat N., Hoai Nam N., Van Minh C., Lee J.H.* 7-Methoxy-(9H- $\beta$ -carbolin-1-yl)-(E)-1-propenoic acid, a  $\beta$ -carboline alkaloid from *Eurycoma longifolia*, exhibits anti-inflammatory effects by activating the Nrf2/heme oxygenase-1 pathway. *J. Cell Biochem.* 2016; 117 (3): 659-670. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.25315>. PMID: 26291957
54. *Lim R., Barker G., Lappas M.* The transcription factor Nrf2 is decreased after spontaneous term labour in human fetal membranes where it exerts anti-inflammatory properties. *Placenta.* 2015; 36 (1): 7-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2014.11.004>. PMID: 25468547
55. *Li H., Zhao J., Chen M., Tan Y., Yang X., Caudle Y., Yin D.* Toll-like receptor 9 is required for chronic stress-induced immunosuppression. *Neuroimmunomodulation.* 2014; 21 (1): 1-7. <http://dx.doi.org/10.1159/000354610>. PMID: 24080854
56. *Rose W.A. 2nd, Sakamoto K., Leifer C.A.* TLR9 is important for protection against intestinal damage and for intestinal repair. *Sci. Rep.* 2012; 2: 574. <http://dx.doi.org/10.1038/srep00574>. PMID: 22893852
57. *Zucker S.N., Fink E.E., Bagati A., Mannava S., Bianchi-Smiraglia A., Bogner P.N., Wawrzyniak J.A., Foley C., Leonova K.I., Grimm M.J., Moparthy K., Ionov Y., Wang J., Liu S., Sexton S., Kandel E.S., Bakin A.V., Zhang Y., Kaminski N., Segal B.H., Nikiforov M.A.* Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9. *Mol. Cell.* 2014; 53 (6): 916-928. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2014.01.033>. PMID: 24613345
- Submitted 19.03.16**

## ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

Научно-практический журнал «Общая реаниматология»,  
входящий в перечень ВАК РФ, предназначен для врачей анестезиологов-реаниматологов  
и научных сотрудников.

**Тематика журнала:** патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний. Вопросы оказания догоспитальной помощи при критических состояниях. Вопросы обучения населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях.

**Аудитория:** лечебные учреждения; высшие учебные заведения медицинского профиля; медицинские учреждения последипломного образования, Федеральные и региональные органы управления здравоохранением, медицинские научно-исследовательские институты; медицинские библиотеки.

## ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Роспечать»

- индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков
- индекс 46339 — для предприятий и организаций