

# АССОЦИИРОВАННОСТЬ ЛЕТАЛЬНЫХ ИСХОДОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО СЕПСИСА С АЛЛЕЛЬНЫМИ ВАРИАНТАМИ ГЕНОВ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ (TNF $\alpha$ ) И БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА (HSP70-2)

Шевченко А.В.<sup>1</sup>, Голованова О.В.<sup>1</sup>, Коненков В.И.<sup>1</sup>,  
Стрельцова Е.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИ Клинической и Экспериментальной Лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

<sup>2</sup> Государственная Новосибирская Областная Клиническая больница, г. Новосибирск

**Резюме.** Учитывая близкую локализацию генов, кодирующих HSP70-2 и TNF $\alpha$ , и взаимное влияние их продуктов на развитие септического процесса, исследовался аллельный полиморфизм кодирующего региона HSP70-2 гена в позиции 1267 и аллельный полиморфизм промоторного региона гена TNF $\alpha$  в позиции –308 у 61 пациента с хирургическим сепсисом относительно 100 здоровых доноров, предполагая, что определенные аллельные варианты могут быть ассоциированы с предрасположенностью к развитию сепсиса и/или к развитию летального исхода при сепсисе. Были найдены достоверные различия в частотах аллельных вариантов HSP70-2 гена при сравнении группы пациентов с сепсисом и контрольной группой. Частота HSP70-2\*B/V увеличена в группе септических больных, и для носителей данного генотипа показана предрасположенность к развитию сепсиса. При анализе совместного носительства аллельных вариантов генов HSP70-2 и TNF $\alpha$  среди умерших пациентов относительно выживших нами выявлены специфичные комбинации, встречающиеся только в группе умерших пациентов: HSP70-2 AA/TNF $\alpha$  AA, и только в группе выживших пациентов: HSP70-2 BB/TNF $\alpha$  AA и HSP70-2 BB/TNF $\alpha$  AG. Полученные результаты исследований позволяют говорить о наличии определенных генетических факторов, способных оказывать существенное влияние на интенсивность воспаления при сепсисе и, следовательно, на клинические проявления и исход заболевания.

**Ключевые слова:** TNF $\alpha$ , HSP70-2, хирургический сепсис.

*Shevchenko A.V., Golovanova O.V., Konenkov V.I., Streltsova E.I.*

## ASSOCIATION OF LETHAL OUTCOMES IN SURGICAL SEPSIS WITH ALLELIC VARIANTS OF TNF $\alpha$ AND HEAT SHOCK PROTEIN (HSP70-2) GENES

**Abstract.** Taking into account close localization of genes encoding HSP70-2 and TNF $\alpha$  and mutual influence of their products upon development of septic process, we investigated allelic polymorphism in the coding region of HSP70-2 gene at position 1267, and a promoter polymorphism of TNF $\alpha$  gene (–308 position) in sixty-one patients with surgical sepsis, as compared with 100 healthy donors, assuming that certain genomic variants can be associated with susceptibility for sepsis and/or fatal outcomes in severe sepsis. Significant differences in frequencies of HSP70-2 gene alleles have been found in the group with sepsis against healthy controls. Prevalence of HSP70-2\*B/B allele is increased in the group of patients with sepsis, and a predisposal for sepsis development is shown for carriers of the given genotype. When analyzing carriers of combined HSP70-2/TNF $\alpha$

### Адрес для переписки:

Шевченко Алла Владимировна  
ГУ НИИ клинической и экспериментальной  
лимфологии  
630099, СО РАМН Новосибирск,  
ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: (383) 227-01-94.  
Факс: (383) 227-01-96.  
E-mail: shalla64@mail.ru

allelic variants among dead patients vs survivors, we have revealed specific combinations that are detected solely among non-survived patients, i.e., HSP70-2 AA/TNF $\alpha$  AA, or only among survivors (HSP70-2BB /TNF $\alpha$  AA и HSP70-2 BB/TNF $\alpha$  AG). The results obtained allow us to suggest about certain genetic factors that may sufficiently influence intensity of inflammation in sepsis and, hence, upon clinical manifestations and outcomes of the disease. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 429-434)

## Введение

На сегодняшний день проблема сепсиса чрезвычайно актуальна и очень многогранна. Сепсис рассматривается как особое патологическое состояние, которое развивается при неадекватном течении инфекционного процесса в иммунокомпromетированном организме [4, 5, 13]. В действительности это целый комплекс проблем, включающий патогенез собственно тяжелых инфекций и каскадности многокомпонентных иммунных реакций организма. В среднем летальность от сепсиса составляет 50%. Прослеживается ее четкая зависимость от первичной локализации воспалительного процесса. Самая высокая летальность отмечена среди пациентов с абдоминальным сепсисом — 72% [2]. Если иммунная защита от патогенных микроорганизмов окажется несостоятельной, воспалительная реакция выходит из-под контроля и может привести к неудержимому микробному размножению, повреждению тканей организма, сосудистому коллапсу и мультиорганной недостаточности [1].

Одним из основных цитокинов, участвующих в процессе развития сепсиса и септического шока, рассматривают фактор некроза опухолей альфа — TNF $\alpha$ . Он влияет на целый комплекс биологических процессов как прямым — стимуляция хемотаксиса нейтрофилов в очаг воспаления, так и косвенным образом — за счет индукции синтеза других провоспалительных медиаторов [7]. Показано, что при абдоминальном сепсисе TNF $\alpha$  стимулирует секрецию некоторых интерлейкинов, активность макрофагов, влияет на Т-лимфоциты, оказывает влияние на многие факторы и системы организма [3].

Ген, кодирующий TNF $\alpha$ , картирован на коротком плече 6 хромосомы в позиции 6p21.1-21.3 внутри кластера генов III класса MHC между HLA-B и HLA-DR генами [12]. Описано несколько полиморфных позиций промоторного региона гена, но наибольший интерес вызывает SNP полиморфизм в позиции —308 G/A, причем замена гуанидина на аденин приводит к увеличению экспрессии гена [9, 17, 28]. Показано, что повышенная экспрессия является причиной более высокой восприимчивости индивидуумов к сепсису и дальнейшему развитию септического шока [24].

Не менее значимая роль отводится белкам теплового шока HSP70 в клетках как в реализации физиологических функций клеток, так и в их защите при стрессовых состояниях, где они выполняют функцию «молекулярных шаперонов». Спо-

собность HSP70 менять структуру полипептидов повышает интенсивность их внутриклеточного транспорта в органеллы, что приводит к восстановлению структуры поврежденных денатурированных белковых комплексов. Кроме шаперонной функции, тепловые белки семейства 70 выполняют функцию регуляторов синтеза провоспалительных цитокинов, включая TNF $\alpha$ , синаптической передачи и активируют защитную реакцию на потенциальную бактериальную активность. На клеточных моделях расшифрован один из важных молекулярных механизмов участия HSP70 в протекании системной воспалительной реакции при сепсисе. В основе лежит увеличивающаяся экспрессия молекул HSP, которая приводит к блокированию экспрессии провоспалительных цитокинов [6, 11].

Гены, кодирующие HSP, расположены на коротком плече 6 хромосомы в регионе III класса MHC комплекса в 280 kb к центромере от гена TNF $\alpha$ . В этом семействе различают три полиморфных гена: HSP70-1, HSP70-2 и HSP70-HOM, причем HSP70-2 ген является индуцибельным [22].

Учитывая близкую локализацию генов, кодирующих HSP70-2 и TNF $\alpha$ , и взаимное влияние их продуктов при развитии септического процесса, мы исследовали аллельный полиморфизм кодирующего региона HSP70-2 гена в позиции 1267 и аллельный полиморфизм промоторного региона гена TNF $\alpha$  в позиции —308 у пациентов с хирургическим сепсисом относительно здоровых доноров, предполагая, что определенные аллельные варианты могут быть ассоциированы с предрасположенностью к развитию сепсиса и/или к развитию летального исхода при сепсисе.

## Материалы и методы

**Пациенты и контроль.** Нами были обследованы 61 пациент (24 женщины и 37 мужчин в возрасте от 15 до 70 лет) с диагнозом «хирургический сепсис». Из них 45 выживших (26 мужчин и 19 женщин) и 16 умерших (11 мужчин и 5 женщин) пациентов. В 64% случаев сепсис осложнил течение гнойно-воспалительных заболеваний брюшной, в 15% случаев — грудной полости, у 21% регистрировался ангиогенный сепсис. Диагноз сепсиса выставляли в соответствии с рекомендациями Чикагской согласительной конференции по двум критериям:

1. наличие очага инфекции;
2. клиническая манифестация SIRS.

Контрольную группу составили 100 относительно здоровых доноров европеоидного происхождения: 39 мужчин и 61 женщина в возрасте от 16 до 43.

**HSP70-2 и  $TNF\alpha$  RFLP-анализ.** ДНК выделялась стандартным фенол-хлороформным методом из периферической крови пациентов.

Полиморфные участки  $HSP70-2$  и  $TNF\alpha$  генов были амплифицированы с использованием специфичных праймеров для  $HSP70-2$  гена [23] и  $TNF\alpha$  [26] («СибЭнзим», г. Новосибирск). PCR реакционная смесь содержала 500 ng геномной DNA, 200  $\mu$ м каждого dNTP, 1  $\mu$ м каждого праймера, 1 единицу Tag DNA полимеразы («СибЭнзим», г. Новосибирск), 1 x PCR буфер с 1,5 mM  $MgCl_2$ . PCR продукты были гидролизваны PstI рестриктазой для  $HSP70-2$  гена (позиция 1267) и Bsp19I рестриктазой для  $TNF\alpha$  гена (позиция –308) («СибЭнзим», г. Новосибирск) и визуализированы в ультрафиолетовом свете после разгонки в 1,5% агарозном геле.

**Статистический анализ.** Анализ различий частот исследуемых признаков и относительного риска заболевания проводился точным методом Фишера с корректирующей поправкой Йетса для величин меньше пяти с использованием авторских программ для генетико-статистического анализа [8].

## Результаты

RFLP анализ полиморфного кодирующего региона  $HSP70-2$  гена выявлял фрагмент 2075 пн при отсутствии PstI сайта ( $HSP70-2^*B$  аллель) и фрагменты 1139 и 936 пн в присутствии PstI сайта ( $HSP70-2^*A$  аллель), Bsp19I гидролиз выявлял фрагмент 117 пн при отсутствии Bsp19I сайта ( $TNF\alpha A-308$  аллель) и фрагменты 97 и 20 пн в присутствии Bsp19I сайта ( $TNF\alpha G-308$  аллель).

Частоты PstI и Bsp19I аллельных вариантов и генотипов указаны в таблице 1. Были найдены достоверные различия в частотах аллельных вариантов  $HSP70-2$  гена при сравнении группы пациентов с сепсисом и контрольной группой. Частота  $HSP70-2^*B/B$  на 50% увеличена в группе септических больных по сравнению со здоровыми лицами, и для носителей данного генотипа установлен достоверный характер позитивной ассоциированности с предрасположенностью к развитию сепсиса ( $RR = 1,85$ ;  $p < 0,0293$ ). При анализе частот аллельных вариантов гена  $TNF\alpha$  в рассматриваемой позиции нами установлена закономерная тенденция к возрастанию частоты встречаемости среди пациентов как самого аллеля A (на 30%), так его гомозиготного варианта A/A (на 20%) и гетерозиготного варианта A/B (на 50%).

Анализ частот аллельных вариантов  $HSP70-2$  и  $TNF\alpha$ , показанный в таблице 2, выявил ряд интересных закономерностей. Проведенный клинико-генетический анализ показал, что установленное нами повышение частоты встречаемости аллеля B гена  $HSP70-2$  и его комбинаций среди

**ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ  $HSP70-2$  ГЕНА В ПОЗИЦИИ 1267 И  $TNF\alpha$  В ПОЗИЦИИ –308 СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ**

HSP70-2/PstI	сепсис n = 61	контроль n = 100	RR
A/A	0,15	0,18	–1,27
A/B	0,46	0,56	–1,50
B/B	0,39	0,26	1,85*
A	0,38	0,46	–1,41*
B	0,62	0,54	1,41*
$TNF\alpha/Bsp19I$			
A/A	0,06	0,05	1,33
A/G	0,20	0,13	1,64
G/G	0,74	0,82	–1,62
A	0,16	0,12	1,51
G	0,84	0,88	–1,51

Примечание. \* –  $p < 0,05$ .

пациентов с хирургическим сепсисом наиболее характерно для группы пациентов, для которых комплекс лечебных мероприятий оказался эффективным. Тогда как частота распространения аллеля A этого гена, достоверно сниженная среди пациентов с хирургическим сепсисом, на 10% чаще выявлена среди умерших пациентов, а гомозиготный вариант A/A выявлен чаще на 45% по сравнению с группой выживших больных. Сходная картина установлена и при клиническом анализе распределения аллельных вариантов гена  $TNF\alpha$  в позиции –308. Установленная

**ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ  $HSP70-2$  ГЕНА В ПОЗИЦИИ 1267 И  $TNF\alpha$  В ПОЗИЦИИ –308 СРЕДИ УМЕРШИХ И ВЫЖИВШИХ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ**

HSP70-2/PstI	Сепсис выжившие n = 45	Сепсис умершие n = 16	RR
A/A	0,13	0,19	1,50
A/B	0,47	0,44	–1,13
B/B	0,40	0,37	–1,11
A	0,37	0,41	1,8
B	0,63	0,59	–1,8
$TNF\alpha/Bsp19I$			
A/A	0,07	0,06	–1,07
A/G	0,22	0,12	–2,0
G/G	0,71	0,81	1,76
A	0,18	0,12	–1,51
G	0,82	0,88	1,51

**ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТЫ HSP70-2/TNF $\alpha$  В ПОЗИЦИЯХ 1267 И –308 СООТВЕТСТВЕННО СРЕДИ УМЕРШИХ И ВЫЖИВШИХ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ**

HSP70-2/TNF $\alpha$	выжившие n = 45	умершие n = 16	RR
AA/AA	0	0,06	8,81
AA/AG	0,04	0,06	1,43
AA/GG	0,09	0,06	–1,46
AB/AA	0,04	0	–1,90
AB/AG	0,11	0,06	–1,88
AB/GG	0,31	0,38	1,33
BB/AA	0,02	0	–1,11
BB/AG	0,07	0	–2,72
BB/GG	0,32	0,38	1,33

для всей группы больных с хирургическим сепсисом тенденция к возрастанию частоты аллельного варианта А и его комбинаций сохраняется в основном для группы больных, выживших в результате проведенного лечения, тогда как для умерших пациентов более характерно наличие варианта G и его гомозиготного варианта G/G.

При анализе совместного носительства аллельных вариантов генов HSP70-2 и TNF $\alpha$  среди умерших пациентов относительно выживших нами выявлены специфичные комбинации, встречающиеся только в группе умерших пациентов: HSP70-2 AA/ TNF $\alpha$  AA, и только в группе выживших пациентов: HSP70-2BB/TNF $\alpha$  AA и HSP70-2 BB/TNF $\alpha$  AG (табл. 3).

## Обсуждение

Учитывая важную роль TNF $\alpha$  в развитии септического процесса, ген TNF $\alpha$  может рассматриваться как потенциальный маркер риска развития сепсиса [10, 14, 16, 24, 30, 31]. В ряде исследований, проведенных у пациентов с сепсисом и септическим шоком, выявлена корреляция высокого уровня TNF $\alpha$  с тяжестью протекания сепсиса и его неблагоприятным исходом. Промоторный полиморфизм в позиции –308 гена TNF $\alpha$  непосредственно влияет на уровень экспрессии [17]. В исследованиях *in vitro* показано, что TNF –308A аллель связан с возрастанием уровня транскрипции гена по сравнению с TNF –308G, с увеличенной секрецией TNF $\alpha$  в макрофагах *in vitro* и ростом концентрации TNF $\alpha$  в крови *in vivo* [17, 33]. Есть свидетельства, что у носителей –308A аллельного варианта TNF $\alpha$ -гена повышен риск неблагоприятного исхода разнообразных инфекционных и воспалительных процессов, включая менингококковую инфекцию и др. [20, 21, 25]. Рядом авторов выявлена ассоциация TNF308A

аллельного носительства с неблагоприятным течением сепсиса и увеличением риска смертельного исхода по сравнению с септическими больными, у которых в генотипе присутствовал аллельный вариант дикого типа TNF –308G. Причем гомозиготность –308A аллельного варианта повышала риск смертности по сравнению с гетерозиготными пациентами [25]. По данным других исследователей, напротив, результат септического шока был связан с G полиморфизмом в исследуемой позиции промоторного региона TNF $\alpha$  [24, 31]. Кроме того, в ряде работ показано отсутствие каких-либо ассоциаций риска развития у пациентов септического процесса и уровня смертности от аллельного полиморфизма промоторного региона гена TNF $\alpha$  в позиции –308 [9, 30]. Причем в ряде публикаций авторы подчеркивают важность однородности сформированных групп пациентов с сепсисом по этнической принадлежности и связывают с этим различия ассоциированности полиморфизма с исходом септического процесса [27].

В проведенных нами исследованиях группы пациентов, проживающих в Сибирском регионе, анализ SNP TNF $\alpha$  промоторного региона в позиции –308, коррелирующего с уровнем экспрессии цитокина, выявил тенденцию повышения частоты встречаемости аллеля А среди пациентов с хирургическим сепсисом относительно здоровых, что коррелирует с исследованиями, проведенными в европеоидных популяциях. Кроме того, нельзя не учитывать расположение гена TNF $\alpha$  в непосредственной близости от HLA региона, большинство генов которого принимают непосредственное участие в регуляции инфекционных и воспалительных процессов. В таком случае, можно рассматривать полиморфизм TNF $\alpha$  не как независимый фактор риска развития и исхода септического процесса, а как результат действия нескольких близко локализованных полиморфных генов, продукты которых функционально участвуют в протекании воспалительного процесса.

Анализ частоты аллельных вариантов HSP70-2 гена, имеющего близкую пространственную локализацию и непосредственное влияние на продукцию TNF $\alpha$ , выявил, что частота HSP70-2\*B/V была увеличена в группе септических больных, и для носителей данного фенотипа показана предрасположенность к развитию сепсиса (RR = 1,85;  $p < 0,0293$ ). Частота единичного выявления аллеля В также достоверно повышена (RR = 1,41) среди пациентов, но очевидно, что основное значение в ассоциированности имеет именно гомозиготный характер комбинации В аллелей. Напротив, носители HSP70-2\*A аллельного варианта в генотипе оказались резистентны к септическому процессу (табл. 1). Аналогичные

результаты показаны в работах, проведенных у септических больных, Waterer и соавторами [32]. В ряде исследований, напротив, не выявлено каких-либо различий в частотах аллельных вариантов *HSP70-2* гена ни у септических больных относительно здоровых, ни в группах умерших относительно выживших [29], что, возможно, объясняется популяционными особенностями исследуемых групп.

Предполагается, механизмом подобной ассоциированности может быть следующее: клеточные белки при инфекционном воспалении частично денатурированы, и их гидрофобно-связывающие регионы участвуют в формировании нерастворимых комплексов. Hsp70 выполняют функцию шаперонов за счет связывания с гидрофобными поверхностями определенных эпитопов, специфичность которых и является следствием полиморфизма кодирующих регионов. Презентация определенных вариантов собственных *HSP70* молекулам *HLA-DRB1* может индуцировать разный по интенсивности Т-клеточный ответ. Кроме того, существенная гомология аминокислотной последовательности между бактериальными и человеческим *HSP* может стимулировать взаимную реактивность. В результате, собственные белки могут быть идентифицированы как бактериальные, что может привести к усилению иммунного ответа [18,19].

Еще более интересные результаты получены при анализе совместного носительства аллельных вариантов генов *HSP70-2* и *TNF $\alpha$*  среди умерших пациентов относительно выживших. Данные, представленные в таблице 3, показывают, что фенотип AA/AA комбинации генов *HSP70-2* и *TNF $\alpha$*  в указанных точках полиморфизма не выявлен ни у одного из выживших от сепсиса пациентов в достаточно представительной группе наблюдения ( $n = 45$ ). С другой стороны, наличие в генотипе пациента комбинаций аллелей *HSP70-2* и *TNF $\alpha$* : *HSP70-2BB/TNF $\alpha$ AA* и *HSP70-2 BB/TNF $\alpha$  AG*, частота встречаемости которых в той или иной мере повышена в группе больных, выживших после развития септических состояний, выявляется исключительно среди этих пациентов с высоким уровнем сопротивляемости. Ни у одного из пациентов, умерших, несмотря на проводимый интенсивный комплекс лечебных мероприятий, данный генотип не выявлен. Эти результаты свидетельствуют о вероятном влиянии генотипа пациента в полиморфных областях, кодирующих структуру факторов, регулирующих интенсивность воспалительных процессов, на характер течения септических процессов. С другой стороны, высокий уровень ассоциированности аллельных вариантов генов *HSP70-2* и *TNF $\alpha$*

с течением и исходом хирургического сепсиса, позволяет надеяться на создание реальных генетических критериев доклинического прогноза развития клинической картины заболевания, что, в свою очередь, может привести к изменению тактики ведения угрожаемых пациентов на более интенсивную.

Таким образом, результаты современных исследований позволяют говорить о наличии определенных генетических факторов, способных оказывать существенное влияние на интенсивность генерализованного воспаления и, следовательно, на клинические проявления и исход заболевания. Эти результаты при дальнейшем увеличении проанализированных групп пациентов с различным исходом септических состояний могут привести к созданию достаточно надежных прогностических критериев вероятного исхода заболевания.

## Список литературы

1. Артамонов Р.Г. Сепсис. Новая концепция патогенеза и лечения // Мед. реферат. сб. — <http://medreferat.ru/referat/terap/detail.php?ID=911>.
2. Белобородов В.Б. Актуальные вопросы патогенеза и лечения сепсиса // Concilium Medicum. Приложение. — 2001. — Т. 3, № 6. — С. 1-6.
3. Гаин Ю.М., Алексеев С.А., Богдан В.Г., Соколов Ю.А. Проблема абдоминального сепсиса в хирургии: патогенез заболевания // Белорус. мед. журн. — 2003. — № 1. — С. 32-37.
4. Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса // Пособие для врачей. — СПб.: Ясный Свет, 2002. — 48 с.
5. Козлов В.К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса: возможности диагностики // Цитокины и воспаление. — 2006. — № 2.
6. Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В. Молекулярные, клеточные и системные механизмы протективной функции белка теплового шока 70 кДа // Нейронаука: Межд. науч.-практ. журнал. — 2005. — Т. 2, № 2. — С. 3-26.
7. Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении // Иммунология. — 1995. — № 4. — С. 34-40.
8. Прокофьев В.Ф., Воронова И.А., Котова Л.А., Ширинский В.С., Вольский Н.Н. Иммунологические методы раннего диагноза и прогноза в клинике аутоиммунных заболеваний // Клиническая иммунология и иммуногенетика. — Новосибирск, 1998. — С. 126-134.
9. Bidwell J., Keen L., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases // Genes and Immunity. — 1999. — N 1. — P. 3-19.

10. Bidwell S.J., Keen L., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases // *Genes and Immunity*. — 2001. — 2. — P. 61-70.
11. Bruemmer-Smith S., Stuber F., Schroeder S. Protective functions of intracellular heat-shock protein (HSP) 70-expression in patients with severe sepsis // *Intensive Care Med*. — 2001. — Vol. 27. — P. 1835-1841.
12. Campbell R.D., Trowsdale J., Raquousis J. Map of the human major histocompatibility complex // *Immunol. Today*. — 1993. — Vol. 14. — P. 349-352.
13. Crowther M.A., Marshall J.C. Continuing challenges of sepsis research // *JAMA*. — 2001. — Vol. 286. — P. 1894-1896.
14. Davis E.G., Eichenberger M.R., Grant B.S., Polk H.C.Jr. Microsatellite marker of interferon-gamma receptor 1 gene correlates with infection following major trauma // *Surgery*. — 2000. — Vol. 128. — P. 301-305.
15. Favatier F., Bornman L., Hightower L.E., Gunther E., Polla B.S. Variation in Hsp gene expression and Hsp polymorphism: susceptibility and stress tolerance? // *Cell Stress & Chaperones*. — 1997. — Vol. 2. — P. 141-155.
16. Haukim N., Bidwell J.L., Smith A.J.P., Keen L.J., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. — Suppl. 2 // *Genes and Immunity*. — 2002. — N 3. — P. 313-330.
17. Holmes C.L., Russell J.A., Walley K.R. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock. Role in prognosis and potential for therapy // *Chest*. — 2003. — Vol. 124. — P. 1103-1115.
18. Horwich A., Weber-Ban E., Finley D. Chaperone rings in protein folding and degradation // *PNAS*. — 1999. — Vol. 96. — P. 11033-11040.
19. Karlsen A.E., Dyrberg T. Molecular mimicry between non-self, modified self and self in autoimmunity // *Immunology*. — 1998. — Vol. 10. — P. 25-34.
20. McGuire W., Hill A.V., Allsopp C.E., Greenwood B.M., Kwiatkowski D. Variation in the TNF $\alpha$  promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria // *Nature*. — 1994. — Vol. 371. — P. 508-510.
21. McManus R., Wilson A.G., Mansfield J., Weir D.G., Duff G.W., Kelleher D. TNF2, a polymorphism of the tumor necrosis- $\alpha$  gene promoter is a component of the celiac disease major histocompatibility complex haplotype // *Eur. J. Immunol.* — 1996. — Vol. 26. — P. 2113-2118.
22. Milner C., Campbell D. Structure and expression of the three MHC-linked HSP70 genes // *Immunogenetics*. — 1990. — Vol. 32. — P. 242-251.
23. Milner C., Campbell D. Polymorphic analysis of the three MHC-linked HSP70 genes // *Immunogenetics*. — 1992. — Vol. 36. — P. 357-362.
24. Mira J.P., Cariou A., Grall F. et al. Association of TNF2, a TNF $\alpha$  promoter polymorphism with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study // *JAMA*. — 1999. — Vol. 282. — P. 561-568.
25. Nadel S., Newport M.J., Booy R., Levin M. Variation in the tumor necrosis factor- $\alpha$  gene promoter region may be associated with death from meningococcal disease // *J. Infect. Dis.* — 1996. — Vol. 174. — P. 878-880.
26. Patino-Garcia A., Sotillo-Pineiro E., Modesto C., Sierrasesumaga L. Screening of the tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms by PCR-DGGE analysis // *Mutat. Res. Genomics*. — 1999. — Vol. 406. — P. 121-125.
27. Ramakrishna V. Perspective: cytokine gene polymorphisms in human diseases // *Int. Soc. for Interferon and Cytokine Res.* — 2004. — Vol. 11, N 3. — P. 2-6.
28. Sehajpal P.K. Rapid detection of single nucleotide (-308) polymorphism in TNF $\alpha$  promoter using ARMS-PCR // *Curr. Science*. — 2003. — Vol. 85, N 11. — P. 1521-1523.
29. Schroeder S., Reck M., Hoeft A., Stuber F. Analysis of two human leukocyte antigen-linked polymorphic heat shock protein 70 genes in patients with severe sepsis // *Crit. Care Med*. — 1999. — Vol. 27, N 7. — P. 1265-1270.
30. Stuber F., Udalova I.A., Book M., Drutskaya L.N., Kuprash D.V., Turetskaya R.L., Schade F.U., Nedospasov S.A. -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter // *J. Inflamm.* — 1996. — Vol. 46. — P. 42-50.
31. Tang G.J., Huang S.L., Yien H.W., Chen W.S., Chi C.W., Wu C.W., Lui W.Y., Chiu J.H., Lee T.Y. Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection // *Crit. Care Med*. — 2000. — Vol. 28. — P. 2733-2736.
32. Waterer G.W., Elbahlawan L., Quasney M.W., Zhang Q., Kessler L.A. Heat shock protein 70-2+1267 AA homo-zygotes have an increased risk of septic shock in adults with community-acquired pneumonia // *Crit. Care Med*. — 2003. — Vol. 31. — P. 1367-1372.
33. Wilson A.G., Symons J.A., McDowell T.L., McDevitt H.O., Duff G.W. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor  $\alpha$  promoter on transcriptional activation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1997. — Vol. 94. — P. 3195-3199.

поступила в редакцию 20.04.2007  
принята к печати 30.05.2007