

3.4. Генетические факторы течения и исхода пневмонии, вызванной коронавирусной инфекцией

О.Н. Титова, Н.А. Кузубова, Е.В. Волчкова, А.Б. Чухловин

3.4. Genetic factors affecting the course and outcomes of coronavirus disease-associated pneumonia

Olga N. Titova, Natalia A. Kuzubova, Elizaveta V. Volchkova, Alexey B. Chukhlovин

Как известно, клиническое течение *COVirus Disease-2019* (COVID-19) весьма вариабельно — от бессимптомной инфекции до тяжелых форм с возможным летальным исходом. Учет факторов риска и исходов при тяжелых формах данного заболевания важен как в планировании лечения, так и в эпидемиологическом аспекте. При оценке относительных рисков тяжелого течения COVID-19 следует учитывать ряд особенностей самого вируса, организма больного и его окружения [1], в частности сопутствующих заболеваний, связанных с возрастом пациента, коинфекций, доминирующей микробиоты и образа жизни пациента. Существенную роль играют также особенности генома больного, в частности функциональные (полиморфные) варианты ряда патогенетически значимых генов. Относительная роль каждого из этих факторов должна быть основана на различных уровнях доказательности. Интегральная оценка относительного вклада генетических и средовых факторов пока еще невозможна из-за неполноты имеющихся научных данных.

Пандемия COVID-19 затронула все группы населения, но показатели заболеваемости и смертности очень отличаются по отдельным географическим регионам, а также в различных возрастных группах, зависят также от характеристик самого вируса-возбудителя и ряда социально-демографических показателей популяции. В частности, роль возрастного фактора в течении и исходах COVID-19 достаточно обоснована и общепризнана. Так, отмечен двукратный рост тяжелого течения и летальных исходов COVID-19 на каждые 6–7 лет возраста у пожилых пациентов [2].

Роль генетических факторов в развитии тяжелых форм COVID-19 может изменяться с возрастом. *T. Nakanishi et al.* обобщили индивидуальные данные 13 888 пациентов, в т. ч. 7 185 случаев госпитализации из 9 государств для того, чтобы оценить связь генного варианта на хромосоме 3, известного как rs10490770, с осложнениями и смертностью от COVID-19 с последующим метаанализом по данным биобанков *FinnGen* и Колумбийского университета [3]. Авторы обнаружили, что аллель риска rs10490770 был

связан с повышенным риском общей смертности (отношение рисков — 1,4; 95%-ный доверительный интервал (ДИ) — 1,2–1,7). Носители вариантного аллеля чаще имели различные осложнения: тяжелую дыхательную недостаточность — ДН (отношение шансов (ОШ) — 2,1; 95%-ный ДИ — 1,6–2,6), венозные эмболии (ОШ — 1,7; 95%-ный ДИ — 1,2–2,4) и патологию печени (ОШ — 1,5; 95%-ный ДИ — 1,2–2,0). Особо следует отметить, что носители данного аллеля в возрасте < 60 лет имели повышенный риск смерти или тяжелой ДН по сравнению с пациентами старше 60 лет (32,3 vs 13,9%). Данный генетический фактор позволял прогнозировать летальный исход или респираторные проблемы не менее эффективно, чем клинические показатели. Однако существует и мнение, что лица в возрасте > 100 лет могут быть более устойчивыми к инфекции, вызванной вирусом *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2* (SARS-CoV-2), что гипотетически может быть связано с эпидемией гриппа-«испанки» в 1919 г., которую пережила эта возрастная группа [4].

Методология оценки генетических ассоциаций

Исследования клинко-генетических ассоциаций в небольших группах пациентов

Связь частых функциональных вариантов генов с различными заболеваниями человека изучают уже > 30 лет. Поиск таких корреляций осуществляют с помощью стандартных приемов. Так, при наличии биаллельных генных вариантов (аллели А и В) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК определяют соотношение более и менее редких вариантов, гомо- и гетерозиготных генотипов (АА, АВ и ВВ) и оценивают различия между контрольной выборкой (общая популяция) и группой пациентов. При достоверном различии в частоте определенного аллеля в группе пациентов делают вывод о его ассоциации с данным заболеванием. Обычно для того, чтобы сделать такое заключение, нужно провести генотипирование ≥ 100 человек в контроле и аналогичного числа пациентов. Однако, по правилам

статистики, чем реже встречается полиморфный генный вариант, тем обширнее должна быть выборка обследованных лиц.

Методики метаанализа

При исследовании генетических факторов предрасположенности к инфекции COVID-19 группы пациентов набирали быстро, и уже к концу 2020 г. появилось множество исследований на эту тему, обобщенных в ряде достаточно полных метаанализов [5]. Подобные исследования основаны на публикациях, согласно принятым критериям отбора с точки зрения размера выборок, корректности методик генотипирования, клинической оценки пациентов и характеристик групп контроля (сравнения). Этот подход позволяет собрать и проанализировать большое число случаев данного заболевания, обследованных в различных центрах и обнаружить даже маловыраженные клинико-генетические ассоциации. Такие слабые связи обычно не имеют клинического значения для конкретных пациентов и представляют лишь научный интерес. Примером подобного исследования является метаанализ связей между генами тканевой совместимости *HLA* и тяжестью COVID-19 [5]. Авторы предполагали выявить те аллели *HLA*, которые ассоциированы с заболеваемостью COVID-19. Для этого проведен поиск по 3 основным базам публикаций (*PubMed*, *Cochrane library* и *Web of Science*) за 1,5 года пандемии. Анализ данных проводили независимо 2 группы специалистов. Из 1 278 исследований были отобраны 36 достаточно полных публикаций, охвативших 794 571 случай, представлявших, главным образом, страны Европы и Юго-Восточной Азии. Из 117 кандидатных аллелей 73% показали положительную корреляцию с заболеваемостью, и 27% аллелей – отрицательную корреляцию с заболеваемостью COVID-19. Наиболее изученный аллель (*HLA-A*02*) показал разнонаправленные результаты в разных исследованиях. Лишь один неклассический вариант *HLA-E* (*E*01:01*) был ассоциирован с тяжестью заболевания. Таким образом, это масштабное исследование не показало выраженной зависимости COVID-19 от генотипа *HLA* пациентов из-за этнических различий, особенностей генотипирования и других факторов [5].

На протяжении 20 последних лет подробные карты генома составляли на основании данных полногеномного анализа (GWAS). Данная методика выявляет ассоциации между клиническими признаками (заболеваниями) и генными маркерами конкретных хромосом и их участков. Далее можно предположить, какие гены в этом сегменте хромосом ассоциированы с патологией. Примером может служить исследование *F. Degenhardt et al.* [6], в котором авторы предприняли расширенный полногеномный анализ в европейской когорте из 3 255 больных COVID-19 с поражением органов дыхания в сравнении с 12 488 представителями общей популяции Италии,

Испании, Норвегии, Германии и Австрии. Помимо обычных демографических показателей, а также оценки тяжести заболевания были проведены углубленные исследования гаплотипов Y-хромосомы, генов *HLA* и белков вируса SARS-CoV-2. С помощью методов биоинформатики была подтверждена генная ассоциация в области 17q21.31 с наличием длинной инверсии хромосомы 17 (~ 0,9 Mb). Интересно, что этот участок содержит ген *NAPSA*, который экспрессируется в альвеолярных клетках и регулирует процесс газообмена в легких.

Более обширный поиск проводился группой *K. Gupta et al.* [7]. Авторы провели систематический анализ всех генных вариантов, ассоциированных с COVID-19 за два года пандемии (с апреля 2022 г.), исследованных по крайней мере в 3 отдельных работах. Анализ распределения 130 генных полиморфизмов в 61 гене выявил 7 генных вариантов на основании обследования 15 550 пациентов с COVID-19 и 444 007 лиц контрольной популяции. В результате показан повышенный риск инфекции при анализе генных вариантов *ACE1 I/D* (rs4646994/rs1799752), *APOE* (rs429358), *CCR5* (rs333) и *IFITM3* (rs12252). Метаанализ по 11 генам (6 702 пациента с тяжелыми формами COVID-19 и 8 640 больных без тяжелых проявлений) показал статистически значимую ассоциацию генных вариантов *ACE2* (rs2285666, rs2106809, rs2074192), а также гена *AGTR1* (rs5186) и *TNFA* (rs1800629) с тяжелым течением COVID-19.

На основании имеющихся данных о генах предрасположенности к COVID-19 можно создать мультигенную панель для детекции конкретных генных вариантов. Этот подход применили авторы из Китая, которые обследовали группу из 241 пациента [8]. Ими была создана диагностическая панель для анализа 1 238 вариантов и 25 регуляторных участков 19 кандидатных генов, избранных по данным публикаций или ранее проведенных полногеномных исследований. Всего изучили 1 448 уникальных генных вариантов. После гибридизации коротких фрагментов ДНК, гибридизации с геноспецифическими РНК-зондами и последующей ПЦП проводилось таргетное секвенирование методами NGS (*Next generation sequencing* – секвенирование нового поколения). Анализ генных ассоциаций у пациентов с легким и тяжелым течением COVID-19 показал наличие 49 вариантов в 18 независимых локусах, связанных с заболеваемостью или тяжелым течением заболевания. В частности, подтверждены ассоциации с вариантом rs1799964 в промоторной области гена *TNF*, регулирующего воспаление, rs9975538 в интронном сегменте гена рецептора интерферона *IFNAR2*, rs429358 в кодирующей области гена *APOE*, rs1886814 в интроне *FOXP4-AS1*, а также показана возможная патогенетическая роль ранее известных вариантов генов в сегменте 3p21.31 и генов групп крови *ABO* в совокупности с рядом заново выявленных 67 достоверных ассоциаций других генов в 12 регуляторных участках 12 других генов ($p < 0,05$).

При наличии информации о множестве генных вариантов у пациента возможна оценка влияния отдельных генных полиморфизмов на активность функционально значимых генов. Группа японских исследователей провела детальный анализ мРНК (т. е. кодирующих участков генов) в клетках цельной крови с помощью методик NGS у 465 пациентов (359 тяжелых случаев и 106 – с легкими формами COVID-19 [9]). Среди множества количественных изменений активности генов, обнаружены 34 возможных генных варианта, актуальных для клеток гемопоэза, а также 1 549 возможных вариантов модификации РНК, в т. ч. патогенетически значимых генов *REST* и *STING1*. Оценка генной экспрессии выявила 198 генов, активированных при тяжелом течении COVID-19, часть из которых регулирует функции врожденного иммунитета. Однако авторы подчеркивают, что данный спектр генной активности показан пока лишь в японской популяции.

Варианты генов противовирусного ответа, ассоциированные с тяжестью и летальностью при инфекции SARS-CoV-2

Частота и тяжесть COVID-19 определяются как свойствами самого вируса (его контагиозностью и вирулентностью), так и особенностями врожденных иммунных реакций человека на вирусную инфекцию. Мы не будем здесь рассматривать генетические варианты самого вируса SARS-CoV-2. В то же время за последние 2–3 года выявлен целый ряд патогенетически значимых генов, которые ассоциированы с клиническим течением и исходами COVID-19. Генотипирование конкретных функциональных вариантов у пациентов способствует прогнозированию индивидуального риска тяжести и возможных исходов заболевания [10]. Функциональные варианты генов, вовлеченные в развитие патологии, могут быть классифицированы на несколько групп по своему участию на различных этапах патогенеза COVID-19. В частности, варианты генов, кодирующих ангиотензин-превращающий фермент (*ACE1*, *ACE2*), могут влиять на связывание вируса SARS-CoV-2 с мембранами клеток-мишеней. Ген *ACE2* является основным рецептором SARS-CoV-2 на поверхности клеток-мишеней, а ген *ACE1* (инсерционно-делеционный I/D вариант) может также влиять на связывание вируса с клеткой, так как вариант D ассоциирован со сниженной экспрессией белка, что также может изменять контагиозность вируса.

Продукт гена *ADAM17* (один из ферментов семейства матриксных металлопротеиназ) способен стимулировать выход *ACE2* с мембраны во внеклеточное пространство, изменяя восприимчивость клеток к вирусной инфекции [11]. Еще одним модифицирующим геном считают *TMPRSS2*, который кодирует трансмембранную сериновую протеазу-2 – фермент, который обеспечивает слияние вируса с мембранами клеток-мишеней и проникно-

вание вируса в клетку [12]. Поэтому активный вариант этого гена может усиливать различные вирусные инфекции и ассоциироваться с тяжелым течением COVID-19. Исследование авторов из Ирана было направлено на генотипирование варианта *TMPRSS2* (rs12329760) посредством тетрапраймерной ПЦР в большой группе пациентов с COVID-19 (592 случая с летальным исходом и 693 выживших) [13]. В данной клинической выборке частота варианта СС гена *TMPRSS2* (rs12329760) была значительно выше среди погибших больных по сравнению с выжившими пациентами. Дополнительный анализ лабораторных показателей выявил корреляцию между наличием в генотипе данного варианта *TMPRSS2*, повышенной вирусной нагрузкой, более старшим возрастом, повышенными уровнями креатинина, С-реактивного белка, α_1 -антитрипсина, мочевой кислоты, высокой СОЭ, при генотипе СС *TMPRSS2* rs12329760. Таким образом, генотип СС *TMPRSS2* (rs12329760) в данной этнической группе оказался связанным с более тяжелым течением COVID-19. Этот же полиморфизм гена *TMPRSS2* исследовала группа бразильских авторов [14]. В исследование включили 402 пациента с подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2, у которых изучали варианты rs2070788 и rs12329760 данного гена. Анализ выживаемости показал, что у пациентов старших возрастов – носителей генотипа GG rs2070788 отмечена меньшая длительность жизни по сравнению с носителями аллеля А гена *TMPRSS2* ($p = 0,009$). Генотип GG оказался независимым фактором, повышающим в 4 раза риск гибели у пациентов старшего возраста. Таким образом, существуют генные варианты, повышающие риск гибели пожилых пациентов с COVID-19.

Ген *CCR5* кодирует рецептор интерлейкина (IL)-8 и ряда хемокинов, способствующих контакту вирусов с клеточными мембранами. Функционально активная делеция *CCR5*- $\Delta 32$ связана с устойчивостью организма к вирусным инфекциям (в особенности, к ВИЧ-1). Показано влияние этой мутации на течение заболевания и летальность при COVID-19, хотя механизм этого пока неясен [15].

Белок, кодируемый *IFITM3* (интерферон-индуцируемый трансмембранный белок 3), участвует во врожденном и адаптивном противовирусном иммунном ответе, препятствуя слиянию мембран клетки и вируса. Этот эффект показан для целого ряда оболочечных инфекционных вирусов, в т. ч. коронавируса SARS [16]. В начальный период пандемии авторами из Республики Корея, по базам данных Всемирной организации здравоохранения COVID-19 и «100 геномов человека», были собраны сведения о частотах аллелей *IFITM3*, *ACE2*, *TMPRSS2*, *IL6* и групповых антигенов АВО в различных странах мира [17]. На основании предыдущих публикаций авторы избрали 26 генных вариантов, для которых ранее были показаны ассоциации между общей смертностью и инфекциями SARS-CoV-2, грип-

пом A(H1N1), а также хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Особое внимание уделялось 3 вариантам гена *IFITM3* (rs12252, rs34481144 и rs6598045). Кроме того, были собраны данные о частоте вариантов *ACE2*, *TMPRSS2*, *IL6*, гена *LZTFL1*, генов *ABO* в различных этнических группах. При этом в мультиэтническом анализе показана только сильная корреляция между частотой варианта rs6598045 гена *IFITM3* и смертностью от инфекции SARS-CoV-2 в различных этнических выборках. Однако следует отметить, что полученный вывод сделан не по данным конкретной выборки пациентов, а при расчете частот смертности от COVID-19 в обобщенных этнических группах, взятых из различных баз данных. Согласно исследованиям в различных этнических популяциях, конкретные варианты гена *IFITM3* ассоциированы с клиническими проявлениями и риском тяжелых форм COVID-19. В частности, авторы из Ирана изучали частоту варианта rs6598045 *IFITM3* при различной вирусной нагрузке SARS-CoV-2 и клиническом течении инфекции посредством аллель-специфической ПЦР в обширных группах выживших и погибших пациентов [18]. Минорный аллель G полиморфного участка rs6598045 выявлялся значительно чаще у больных при летальных исходах и при более высокой вирусной нагрузке, нежели среди выживших пациентов, как при альфа-, так и при дельта-варианте коронавируса. Другое исследование проводилось в Саудовской Аравии, где обследовано 880 пациентов с COVID-19 [19]. Наличие аллеля G гена *IFITM3* (rs12252) показало умеренную связь с госпитализацией и смертностью больных в течение 3 мес. Носительство этого аллеля была ассоциировано с худшей выживаемостью среди больных в возрасте < 60 лет. Уровни интерферона в плазме крови были также существенно ниже у пациентов с генотипами AG/GG, чем у больных с AA.

IL-6 — один из основных провоспалительных цитокинов, маркеров «цитокинового шторма», возникающего при тяжелом течении COVID-19. Давно известен регуляторный полиморфизм этого гена *IL6* (-174G/C) с вариантом C, ассоциированным с более высокой продукцией этого белка в организме. Так, в популяции Северной Индии показано, что тяжесть течения COVID-19 была более высокой у пациентов — носителей аллеля C гена *IL6* (rs1800795) [20]. Среди генов предрасположенности к COVID-19 рассматривают также ген *TIRAP* (домен *Toll*-рецептора IL-1 с адапторным белком), который участвует в ответе на инфекционные антигены. Частоту функционального варианта генов *TIRAP* (rs8177374), *ACE2* (rs2285666) и фактора X (rs3211783) исследовала группа из Нидерландов в небольшой группе пациентов среднего возраста (116 случаев, медиана — 65 лет) с инфекцией SARS-CoV-2, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [21]. Тяжелая ДН отмечена у 44 больным (38%). Доля носителей генного варианта среди выживших составила 28% по сравнению с 0% при ле-

тальных исходах ($p = 0,01$). Генотипирование данного варианта гена *TIRAP* предлагается в качестве метода прогнозирования исходов COVID-19.

Полиморфный вариант гена *MUC5B* (rs35705950-T) ранее изучался как фактор предрасположенности к фиброзу легких. Коллектив авторов на основании метаанализа обширной популяционной выборки (проект «Миллион ветеранов» — 4 325 случаев COVID-19 и 507 540 в контрольной выборке) выявил меньшую частоту госпитализации при данной инфекции у пациентов с вариантом T гена *MUC5B* (rs35705950). В европейской популяции данный вариант был ассоциирован с более редкой встречаемостью пневмонии при COVID-19 [22].

Ген *VDR* кодирует рецептор витамина D в различных клетках. Функциональные варианты этого гена могут быть связаны с активацией иммунных популяций, в частности моноцитов и макрофагов, в ходе острых иммунных реакций на инфекции. При обследовании 188 пациентов в иранской популяции показана достоверная связь между носительством варианта rs2228570 гена *VDR* и риском заболевания COVID-19 при сравнении групп больных и контроля [23]. Генотипы СТ или СС варианта rs2228570 гена *VDR* (C>T) были ассоциированы с существенным повышением риска COVID-19. Другие полиморфные варианты гена *VDR* (rs7975232 и rs731236), а также гена *DBP* (rs7041) не коррелировали с заболеваемостью COVID-19.

Полиморфные антигены групп крови АВО

Данное направление исследований связано с индивидуальной восприимчивостью к инфекции SARS-CoV-2. Вариабельность иммунного ответа при COVID-19 предполагает возможное модулирующее участие других полиморфных генов, в частности, системы HLA в иммунопатогенезе заболевания. В обзоре *J. Zepeda-Cervantes et al.* приведен список полиморфизмов HLA-антигенов, которые, по данным различных публикаций, могут быть ассоциированы с заболеваемостью COVID-19 [24]. Так, среди HLA-антигенов I класса отмечены ассоциации с эпитопами HLA-A*11, HLA-C*01, HLA-C*07:29, HLA-B*15:27, HLA-B*46:01, HLA-B*07:03, HLA-Cw*08:01, HLA-B*46:01, HLA-A*24:02. Аналогичные корреляции показаны для антигенов II класса: HLA-DQB1*04, HLA-DRB4*01, HLA-DRB1*12:02, HLA-DRB1*15:01, HLA-DQB1*06:02. Однако эти результаты были получены, как правило, в небольших выборках пациентов различной этнической принадлежности (Китай, Япония и др.), или осуществлялся компьютерный анализ больших выборок с оценкой потенциальных взаимодействий белков вируса с тканевыми антигенами.

Генетическая предрасположенность к респираторным осложнениям COVID-19

В одной из работ, опубликованных на ранней стадии пандемии, представлены результаты полно-

геномного анализа различных хромосомных локусов с заболеваемостью и тяжелой респираторной недостаточностью при COVID-19 [25]. Всего обследовано 1 980 пациентов из 2 выборок – итальянской и испанской – с последующим метаанализом. Из полученных клиничко-генетических ассоциаций были выбраны те, которые повторялись в обеих выборках. При этом выявлены высоко достоверные ассоциации между клиникой и генными вариантами rs11385942 в локусе 3p21.31 и rs657152 в локусе 9q34.2, которые проявились в повышении отношения шансов (ОШ – 1,77; $p = 1,2 \times 10^{-10}$ и ОШ – 1,32; $p = 5 \times 10^{-8}$ соответственно). Особое внимание уделено локусу 3p21.31, где находятся гены *SLC6A20*, *LZTFL1*, *CCR9*, *FYCO1*, *CXCR6* и *XCRI*. Другая ассоциация (с локусом 9q34.2) относится к участку генома, кодирующему гены групп крови *ABO*. Более детальный анализ показал, что имеется выраженная связь между клиникой и группой крови А (ОШ – 1,45; $p = 1,48 \times 10^{-4}$), а также отмечен протективный эффект нулевой группы по сравнению с другими группами крови.

Связь антиоксидантных генов *NFE2L2/KEAP1* с вирусной пневмонией изучалась в небольшой группе пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 (110 больных и 111 лиц в контрольной группе) [26]. *NFE2L2* является фактором транскрипции РНК, который регулирует продукцию протективных антиоксидантных факторов, в т. ч. и в ткани легких. Респираторные нарушения классифицировали по критериям ОРДС, выделяя больных с умеренными и тяжелыми нарушениями легочной функции. Генные варианты *NFE2L2* (rs2364723C>G) и *KEAP1* (rs9676881A>G и rs34197572C>T) определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени. Были обнаружены достоверные различия по аллелю G (rs2364723) между тяжелыми пациентами и группой контроля; по аллелю G (rs9676881) при умеренном поражении легких против контроля и по варианту T (rs34197572) при тяжелом течении заболевания против умеренной патологии и контроля. Таким образом, предварительные данные показывают, что аллель G гена *NFE2L2* (rs2364723C>G) проявляет защитный эффект против тяжелого COVID-19, тогда как оба функциональных аллеля *KEAP1* – вариант G (rs9676881A>G), аллель T (rs34197572C>T) – ассоциированы с более агрессивными стадиями пневмонии при COVID-19.

Гены, ассоциированные с другими сопутствующими заболеваниями при COVID-19

Первые волны пандемии COVID-19 показали наибольший риск тяжелых осложнений и летальности в старших группах населения. Помимо факторов физиологического старения значительная роль в развитии осложнений отводилась сопутствующим заболеваниям, которые чаще встречаются в пожилом возрасте. С целью уточнения возрастного, социального и других факторов и с учетом клинических и психосоциальных факторов, способных влиять

на течение и исходы инфекции, в США была организована специальная исследовательская программа «Миллион ветеранов». В нее включены 729 625 лиц среднего и пожилого возраста различных этнических групп для последующего анализа заболеваемости и симптоматики заболевания. Полученные массивы данных позволили оценить ассоциации между генотипом пациентов (полногеномный анализ, *Host Genetics Initiative*), тяжелыми формами вирусной инфекции и сопутствующей патологией. Среди 658 582 лиц старшего возраста варианты генов, ассоциированные с тяжелым течением COVID-19, сопоставляли с 1 559 фенотипами [27]. Генные варианты локуса групп крови *ABO* (rs495828, rs505922) были ассоциированы с наибольшим числом фенотипов (симптоматики?) пациентов (nrs495828 = 53 и nrs505922 = 59) при наиболее сильной связи с венозными эмболиями (ORrs495828 1.33; $p = 1,32 \times 10^{-199}$) и тромбозами (ORrs505922 1.33; $p = 2,2 \times 10^{-265}$). Среди 67 заболеваний органов дыхания 11 имели достоверные ассоциации с генами, в т. ч. с локусом *MUC5B* (rs35705950) с повышенным риском идиопатического фиброзирующего альвеолита (ОШ – 2,83; $p = 4,12 \times 10^{-191}$); *CRHR1* (rs61667602) со сниженным риском легочного фиброза (ОШ – 0,84; $p = 2,26 \times 10^{-12}$). Локус *TYK2* (rs11085727) был ассоциирован с пониженным риском аутоиммунных состояний, например псориаза (ОШ – 0,88; $p = 6,48 \times 10^{-23}$), волчанки (ОШ – 0,84; $p = 3,97 \times 10^{-06}$). Была найдена ассоциация варианта *LMNA* (rs581342) с нейтропенией (ОШ – 1,29; $p = 4,1 \times 10^{-13}$), однако лишь среди лиц африканского и испанского происхождения (при отсутствии у других европейцев). Отмечены общие черты генной архитектуры между тяжестью и исходами COVID-19 и сопутствующими заболеваниями, в частности с респираторными и аутоиммунными заболеваниями.

Специальное исследование было предпринято для оценки возможного влияния ХОБЛ на течение ОРДС при инфекции SARS-CoV-2 в условиях глобальной пандемии [28]. Авторы анализировали как заболеваемость, так и клиническое течение COVID-19. Одной из групп риска при данной инфекции считаются пациенты с сопутствующей ХОБЛ. При этом определяли известные генные полиморфизмы, ассоциированные с развитием COVID-19, а именно rs286914 и rs12329760, а также с респираторной патологией, осложняющей COVID-19 (rs657152 и rs11385942). Определялась возможность множественного риска для таких пациентов. Исследование частот соответствующих аллелей проводили в португальской выборке больных ХОБЛ, а также в общемировой популяции (европейская, африканская, американская и азиатская выборки). Была использована полигенная гипотеза анализа риска. В результате работы не было выявлено различий в генетическом риске по заболеваемости COVID-19, госпитализации пациентов, тяжести течения или

смертности между когортой пациентов с ХОБЛ и контрольной выборкой ($p > 0,01$), вне зависимости от учета аллелей риска, их комбинаций или оценок полигенного риска. Все обследованные популяции, в т. ч. европейского происхождения (португальские, испанские, итальянские), показали существенные отличия от остальной европейской популяции в плане генетического риска заболеваемости и смертности от COVID-19 ($p < 0,0001$). Таким образом, показан низкий вклад генетических факторов в риск развития COVID-19 и ее исходы при наличии у пациентов ХОБЛ.

Влияние ряда генных вариантов в российской популяции на тяжесть и исходы COVID-19

Установлено, что клеточным рецептором SARS-Cov-2 является ангиотензин-превращающий фермент-2 (АПФ-2). В организме человека этот белок кодируется геном *ACE2*. Полиморфизмы *ACE2* могут влиять на аффинность и специфичность связывания S-белка с *ACE2* и, следовательно, определять наследственную предрасположенность к риску инфицирования и летальности SARS-CoV-2, которые ассоциированы с развитием артериальной гипертензии, сахарного диабета, церебрального инсульта, составляющих группу высокого риска инфицирования и летальности инфекции COVID-19 [29].

В работе исследователей из Санкт-Петербурга проведен анализ полиморфизма генов *HLA-DRB1* и *IL28* у 100 пациентов, перенесших COVID-19 различной степени тяжести [30]. К легкому течению относили заболевание без осложнений в виде инфекционного пневмонита, к среднему и тяжелому – с развитием пневмонита с разной степенью поражения легких. В целом распределение аллелей у пациентов с COVID-19 не отличалось от распределения средних значений по РФ, однако чаще выявлялись аллели *HLA-DRB1**01 и *07. Сравнение частоты аллелей *HLA-DRB1* среди пациентов с COVID-19 с разной степенью тяжести выявило более часто встречающиеся аллели *13 и *07 в группе с тяжелой степенью тяжести. Однако при уровнях риска 3,2 и 1,8, достоверность различий оказалась невысокой. При тяжелых формах заболевания показано наличие гомозиготных вариантов аллеля *07 ($p = 0,04$). Статистически значимых отличий гена *IL28B* в группе больных COVID-19 по сравнению с контрольной группой не выявлено.

В целом в своде доступных публикаций пока не обнаружено убедительных отечественных работ по генетической предрасположенности к заболеваемости COVID-19 и развитию тяжелых легочных осложнений с летальным исходом. По ряду причин (гетерогенность выборок, недостаточный уровень доказательности) генетические тесты предрасположенности к пневмониям инфекционного генеза пока не нашли отражения и применения в соответствующих рекомендациях.

Исследование вариантов генов иммунного ответа и сосудистой регуляции у пациентов с COVID-19: собственные данные

Общеизвестно, что восприимчивость к COVID-19 и тяжесть клинической картины заболевания зависят от множества факторов: как патогенных свойств вируса SARS-Cov-2, так и характеристик самого больного – возраста, физического состояния, наличия сопутствующих заболеваний. Кроме того, известен ряд генетических факторов, которые предрасполагают к нарушениям противовирусного иммунного ответа и могут определять патологический фон конкретного пациента. За последние 2 года методами ДНК-диагностики обнаружены индивидуальные генные варианты, которые могут влиять на тяжесть протекания COVID, в первую очередь, остро респираторного синдрома и его тяжелых осложнений. Сюда относят: гены, кодирующие различные патогенетически значимые белковые факторы, в т. ч. рецепторы коронавируса SARS-Cov-2 (*ACE2*, *TMPRSS2*); сигнальные молекулы иммунных клеток (IL-1, IL-6, IL-10, *Toll*-подобные рецепторы-3); гены, вовлеченные в развитие возрастной патологии кровеносной системы (*ACE1*, *ApoE*, *VEGF*) [31]. Некоторые аллельные варианты этих генов ассоциированы с нарушением иммунных функций, задержкой и аномальным процессом восстановления пораженных тканей, в т. ч. бронхоальвеолярной системы при остром респираторном синдроме.

Опубликованы систематические анализы, обобщающие работы по ассоциациям между клиническими проявлениями COVID и определенными генетическими вариантами, в т. ч. полученными с применением высокопроизводительных методик полногеномного анализа. При этом определен ряд кандидатных генов для оценки риска развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) при коронавирусной инфекции [32, 33]. Эти и другие аналогичные исследования послужили основой для выбора изучаемых нами генных вариантов.

Целью исследования была оценка возможных ассоциаций между функционально значимыми генными вариантами и клиническими параметрами инфекции SARS-CoV-2 у пациентов, находившихся в специализированном пульмонологическом стационаре. Полученные результаты подтверждают наличие некоторых клинико-генетических ассоциаций у контингента больных COVID пожилого возраста.

Обследована группа из 181 пациента в возрасте 20–85 лет (в среднем $59,5 \pm 13,3$ года), госпитализированных в ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» (Санкт-Петербург) с инфекцией SARS-CoV-2. Специфическая диагностика проводилась с помощью стандартных ПЦР-тестов или иммунохимическими тест-системами для выявления вирусного антигена. По данным КТ, площадь поражения респираторной зоны до 25% выявлена у 22 больных (12%), 25–50% – у 24 пациентов (13%), 50–75% – в 47 случаях (26%) и 75–100% – у 88 боль-

ных (49%). Пациентам проводили общие анализы крови, биохимические исследования. Количественные маркеры воспаления включали определение С-реактивного белка, IL-6, D-димера фибрина, фибриногена, ферритина, лактатдегидрогеназы в плазме крови. Для оценки тяжести и динамики состояния регулярно проводились пульсоксиметрия и экспресс-оксигеметрия. По данным клинической картины, функциональных и лабораторных тестов, у 113 пациентов (63%) констатировано тяжелое течение, у 67 (37%) – средняя степень тяжести заболевания. Состояние больного COVID-19 определяли в соответствии с критериями тяжести течения, указанными во временных методических рекомендациях «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19 (версия 7 от 03.06.2020 – версия 16 от 18.08.2022). Критериями тяжелого течения пневмонии служили:

- частота дыхательных движений $> 30 \text{ мин}^{-1}$;
- сатурация крови кислородом $\leq 93\%$;
- индекс оксигенации (P_aO_2/FiO_2) $\leq 300 \text{ мм рт. ст.}$;
- нарушение сознания (угнетение его уровня, ажитация);
- объем поражения легочной ткани $> 50\%$;
- нестабильная гемодинамика;
- $t^\circ \text{ тела} > 39,0^\circ \text{C}$ или $< 36,0^\circ \text{C}$;
- > 2 баллов по шкале для оценки риска органно-системной дисфункции qSOFA (*quick Sequential organ failure assessment*).

Для определения показаний к маршрутизации пациентов в палату интенсивной терапии (ПИТ) или ОРИТ использовались прошедшие повторную валидацию в 2019 г. совместные рекомендации Американского торакального общества и Американского общества инфекционных заболеваний, основанные на принципе 2 больших и 9 малых критериев. При наличии 1 большого или ≥ 3 малых критериев течение пневмонии признавалось тяжелым и служило основанием для перевода пациента в ПИТ или ОРИТ. По клиническим показаниям 97 пациентов (53,6%) были направлены в ОРИТ, где проводилась комплексная терапия в соответствии со схемами лечения, приведенными во временных методических рекомендациях «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19 (версия 7 от 03.06.2020 – версия 16 от 18.08.2022). Всем больным в ОРИТ проводилась респираторная поддержка в виде искусственной вентиляции легких (неинвазивной и инвазивной).

Молекулярно-генетические исследования

Геномную ДНК выделяли из венозной крови, консервированной ЭДТА, с помощью набора *Blood DNA Column Kit* («Иноген», РФ). Генотипирование проводили с помощью методик аллель-специфической ПЦР с детекцией продуктов в реальном времени. Проводилось генотипирование аллельных вариантов следующих генов: *OAS1* (сплайсинг-вариант A/G, экзон 6, rs10774671); *ACE1* (инсерци-

онно-делеционный интронный полиморфизм I/D, интрон 16, rs 4343); *VEGF* (экзон +936 C/T); *TLR3* (экзон 4 C/T, rs3775291); *IL6* (промоторный вариант -174 C/G, rs1800795); *IL10* (промоторный вариант -1082G>A, rs1800896); триаллельного полиморфизма гена *ApoE* (экзон 4, варианты $\epsilon 2/3/4$, rs429358/rs7412). Для генотипирования применяли праймеры и флуоресцентные зонды. Подбор специфичных последовательностей олигонуклеотидов осуществлялось с использованием программы *Primer 3*, либо использовались последовательности, ранее описанные в литературе для исследования полиморфизма *ACE-1* [34] и *ApoE* [35]. ПЦР-диагностика генных вариантов проводилась в 2,5x реакционной смеси («Синтол», РФ). Были использованы режимы амплификации, принятые для обычной аллель-специфической ПЦР с фиксацией результатов посредством гелелектрофореза в 2%-ной агарозе с окраской этидий-бромидом или посредством ПЦР в режиме реального времени с применением флуоресцентных зондов.

Статистический анализ производили методами параметрической и непараметрической статистики с применением пакета программ *Statistica 5.0*. Сравнения между группами осуществляли с помощью критериев Уилкоксона или χ^2 для бинарных показателей. Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

Распределение частот аллелей в общей группе пациентов

Частоты гомозиготных и гетерозиготных носителей исследованных генных вариантов в обследуемой группе пациентов отражены в табл. 1 и 2. Как видно, гомо- и гетерозиготные носители представлены относительно равномерно для генов *ACE1* и *IL6* (соотношение генотипов было примерно 1 : 2 : 1), тогда как для остальных генов отмечается существенное преобладание одного из генных вариантов. Отклонение от равновесного отношения аллелей (по правилу Харди–Вайнберга) определяется, в частности, для генов *IL10* и *ApoE*, что может быть связано с возрастными особенностями обследованной когорты пациентов.

Взаимосвязи между изученными генными вариантами и показателями тяжести COVID

На начальном этапе статистического анализа были оценены возможные корреляции между аллельными вариантами 7 исследованных генов и основными клиническими показателями тяжести заболевания по критерию корреляции Спирмена. Достоверные корреляции с показателями тяжести течения заболевания (графы «тяжесть», «ОРИТ» и «исход заболевания») выявлены только для 3 генов (*OAS1*, *VEGF* и *ApoE*) из исследованных семи, и последующий анализ клинико-генетических ассоциаций проводился только для этих генов. Не было выявлено достоверных корреляций между генотипами всех 7 исследованных генов и площадью поражения

Таблица 1. Распределение аллелей исследованных генов у пациентов, госпитализированных с инфекцией SARS-Cov-2 ($n = 181$)

Ген, n	Генотип, n (%)			Аллель, n (%)		p	χ^2
	AA	AG	GG	A	G		
<i>OAS1</i> , 181	AA, 98 (54,1)	AG, 63 (34,8)	GG, 20 (11,05)	A, 161 (88,95)	G, 83 (45,86)	0,149	3,8
<i>ACE1</i> , 180	DD, 38 (21,1)	ID, 100 (55,56)	II, 42 (23,3)	D, 138 (76,7)	I, 142 (78,9)	0,326	2,24
<i>IL10</i> , 180	CC, 38 (21,1)	CT, 69 (38,3)	TT, 72 (40,0)	C, 107 (59,4)	T, 142 (78,9)	0,028	7,17
<i>TLR3</i> , 181	CC, 86 (47,5)	CT, 84 (46,4)	TT, 11 (6,1)	C, 170 (93,9)	T, 93 (51,4)	0,268	2,6
<i>VEGF</i> , 181	CC, 126 (69,6)	CT, 50 (27,6)	TT, 5 (2,8)	C, 176 (97,2)	T, (55 30,4)	0,99	0,002
<i>IL6</i> , 152	GG: 41 (27,0)	GC: 75 (49,3)	CC: 36 (23,7)	G: 116 (76,3)	C: 111 (73,0)	0,99	0,02
<i>ApoE</i> , аллелотипы, 137	2/2: 3 (2,2)	2/3: 19 (13,9)	3/3: 87 (63,5)	3/4: 17 (12,4)	2/4: 5 (3,65)	4/4: 5 (3,65%)	
<i>ApoE</i> , частота аллелей	<i>ApoE</i> 2: 26 (19,0)	<i>ApoE</i> 3: 122 (89,1)	<i>ApoE</i> 4: 27 (19,7)			0,015	–

Таблица 2. Распределение аллелотипов и аллелей гена *ApoE* у пациентов, госпитализированных с инфекцией SARS-Cov-2 ($n = 137$)

Аллелотип	2/2	2/3	3/3	3/4	2/4	4/4
n (%)	3 (2,2)	19 (13,9)	87 (63,5)	17 (12,4)	5 (3,65)	5 (3,65)
Аллель*	2	3	4			
n (%)	26 (19,0)	122 (89,1)	27 (19,7)			

Примечание: * – $p = 0,015$.

легких (градиция от 25 до 100%, по данным КТ), что может указывать на отсутствие достоверной зависимости между выраженностью пневмонического процесса и изучаемыми генетическими факторами.

В табл. 3 представлены достоверные взаимосвязи между отдельными аллельными вариантами 3 информативных генов и показателями тяжести

у конкретных пациентов. Так, носительство аллеля G гена *OAS1* (в т. ч. в гетерозиготной форме AG) чаще отмечалось у пациентов, требующих интенсивной терапии, а также при летальных исходах заболевания. В то же время гомозиготность по аллелю A была ассоциирована с меньшей частотой поступления в ОРИТ и летального исхода. При оценке частот

Таблица 3. Распределение аллельных вариантов генов *OAS1*, *VEGF* и *ApoE* в группах пациентов с различной степенью тяжести COVID-19 (%)

Генный вариант	Степень заболевания		P	Лечение в ОРИТ		P	Исход		P
	Средняя	Тяжелая		–	+		Благополучный	Летальный	
<i>OAS1</i> : AA	58,8	51,8	0,358	63,1	46,4	0,03	60,7	41,8	0,01
<i>OAS1</i> : AG	29,4	38,4	0,221	25,0	43,3	0,01	29,5	44,8	0,04
<i>OAS1</i> : GG	11,8	9,8	0,681	11,9	10,3	0,73	9,8	13,4	0,458
<i>OAS1</i> : A	88,2	90,2	0,681	88,1	89,6	0,73	90,2	86,6	0,458
<i>OAS1</i> : G	41,2	48,2	0,358	36,9	53,6	0,03	39,3	58,2	0,014
<i>VEGF</i> : CC	77,9 (53/68)	65,2 (73/126)	0,07	76,2 (64/84)	63,9 (62/97)	0,07	74,1 (83/112)	64,2 (43/67)	0,159
<i>VEGF</i> : CT	22,1 (15/68)	29,5 (33/112)	0,28	23,8 (20/84)	29,9 (29/97)	0,36	25,9 (29/112)	26,9 (18/67)	0,89
<i>VEGF</i> : TT	0 (0/68)	4,5 (5/112)	0,07	0 (0/84)	5,2 (5/97)	0,035	0 (0/112)	10,4 (5/67)	0,003
<i>VEGF</i> : C	100 (68/68)	95,5 (107/112)	0,08	100 (84/84)	94,9 (92/97)	0,035	100 (112/112)	92,5 (62/67)	0,003
<i>VEGF</i> : T	22,1 (15/68)	34,8 (39/112)	0,07	23,8 (20/84)	36,1 (35/97)	0,07	25,9 (29/112)	35,8 (24/67)	0,159
<i>ApoE</i> : 2/2	0 (0/51)	3,5 (3/85)	0,175	3,1 (2/65)	1,4 (1/72)	0,50	2,4 (2/85)	2,0 (1/50)	0,89
<i>ApoE</i> : 2/3	9,8 (5/51)	15,3 (13/85)	0,36	7,7 (5/65)	19,4 (14/72)	0,05	11,8 (10/85)	18,0 (9/50)	0,31
<i>ApoE</i> : 3/3	74,5 (38/51)	57,7 (49/85)	0,05	72,3 (47/65)	55,6 (40/72)	0,04	69,4 (59/85)	56,0 (29/50)	0,12
<i>ApoE</i> : 2/4	0 (0/51)	5,9 (5/85)	0,08	3,1 (2/65)	4,2 (3/72)	0,73	2,4 (2/85)	2,0 (1/50)	0,89
<i>ApoE</i> : 3/4	9,8 (5/51)	14,1 (12/85)	0,46	9,2 (6/65)	15,3 (11/72)	0,284	9,4 (8/85)	18 (9/50)	0,146
<i>ApoE</i> : 4/4	3,9 (2/51)	3,5 (3/85)	0,91	3,1 (2/65)	4,2 (3/72)	0,73	3,5 (3/85)	4,0 (2/50)	0,89
<i>ApoE</i> : 2	9,8 (5/51)	23,5 (20/85)	0,045	13,9 (9/65)	23,6 (17/72)	0,146	16,5 (14/85)	20,0 (10/50)	0,604
<i>ApoE</i> : 3	96,1 (49/51)	84,7 (72/85)	0,04	90,8 (58/65)	87,5 (63/72)	0,54	91,8 (78/85)	88,0 (44/50)	0,47
<i>ApoE</i> : 4	13,7 (7/51)	23,5 (20/85)	0,165	15,4 (10/65)	23,6 (17/72)	0,23	15,3 (13/85)	24,0 (12/50)	0,21

аллелотипов гена *VEGF* показано, что генотип СС ассоциирован с меньшей частотой тяжелых клинических форм и соответственно с меньшим риском перевода в ОРИТ ($p = 0,07$). Напротив, частота аллеля Т в данной группе пациентов имела тенденцию к повышению среди больных с тяжелыми формами COVID-19, требующих интенсивной терапии ($p = 0,07$), и была ассоциирована с большей частотой летальных исходов. Более редкий генотип ТТ не выявлен в группе выживших пациентов (0/84), а среди погибших больных его частота составила 10% (5/67; $p = 0,003$), т. е. его носительство предполагает высокий риск тяжелого течения COVID-19. Генотип *ApoE* 3/3 встречался несколько реже в группах пациентов с тяжелым течением заболевания и поступающих в отделение интенсивной терапии ($p = 0,05$). В то же время частота известного патологического варианта *ApoE4* не была достоверно выше при более тяжелых формах заболевания ($p = 0,165$). Таким образом, на основании этих данных нельзя заключить о влиянии *ApoE4* на течение COVID-19 в обследованной группе пациентов.

Носительство аллеля G гена *IL6* показывает прямую корреляцию с повышенным содержанием этого цитокина в сыворотке крови ($n = 38$; $r = 0,421$; $p = 0,004$). Аналогичная связь показана между гетерозиготным носительством этого гена и содержанием ИЛ-6 в крови ($r = 0,382$; $p = 0,004$). В частности, средний уровень ИЛ-6 в сыворотке крови был наиболее высоким у пациентов с гетерозиготным генотипом GC (2 380 пг/мл; $n = 20$) по сравнению с 72 пг/мл у гомозигот по G или C ($n = 18$; $p = 0,004$).

Для большинства генотипов не было выявлено достоверных различий между возрастными группами пациентов. Однако, в отличие от остальных генов, для *OAS1* была обнаружена возрастная зависимость, которая выражалась в снижении доли генотипа AA и повышением частоты гетерозиготного генотипа AG

в группах пациентов старше 60 лет (рисунок А). Эти возрастные различия были достоверными ($p = 0,02$ для генотипа AA; $p = 0,005$ для гетерозиготного AG), что отражено на рисунке Б. Доля генотипа GG с возрастом достоверно не изменялась ($p = 0,22$).

Несмотря на интенсивное лечение, в $1/3$ из 181 случая констатированы летальные исходы, связанные главным образом с тяжелой мультиорганный патологией, которая часто осложняет течение COVID. Для анализа генетической предрасположенности к более тяжелым клиническим формам заболевания у пациентов исследовали ранее описанные полиморфные варианты 7 генов, ассоциированных с различными клиническими проявлениями COVID, из которых три имеют отношение к состоянию сосудистой системы (*ACE1*, *VEGF*, *ApoE*), два – к рецепции инфекционных антигенов и инициации иммунного ответа (*TLR3*, *OAS1*) и два генных варианта контролируют синтез цитокинов (*IL6*, *IL10*). По результатам проведенного исследования три из этих генных полиморфизмов оказались ассоциированными с ключевыми клиническими показателями (индексом тяжести, фактом поступления в ОРИТ и летальным исходом) у пациентов, госпитализированных с тяжелыми проявлениями COVID-19.

Известно, что функциональный полиморфизм гена *OAS1* (аллель А, rs10774671) и сниженная экспрессия гена *OAS1* (олигоаденилатсинтетазы) при частом гаплотипе rs10774671-А и rs1131454-А ведет к синтезу аномальных изоформ соответствующего белка, снижению первичного иммунного ответа на РНК-вирусы и более тяжелому течению COVID-19 [36]. Напротив, наличие протективного аллеля G связано с синтезом полноценного энзима *OAS1* [37]. При генетическом анализе 83 семей аллель G (rs10774671) встречался чаще у лиц с высокой активностью *OAS1*, чем в группе с низкой активностью энзима. При массовом обследовании мекси-

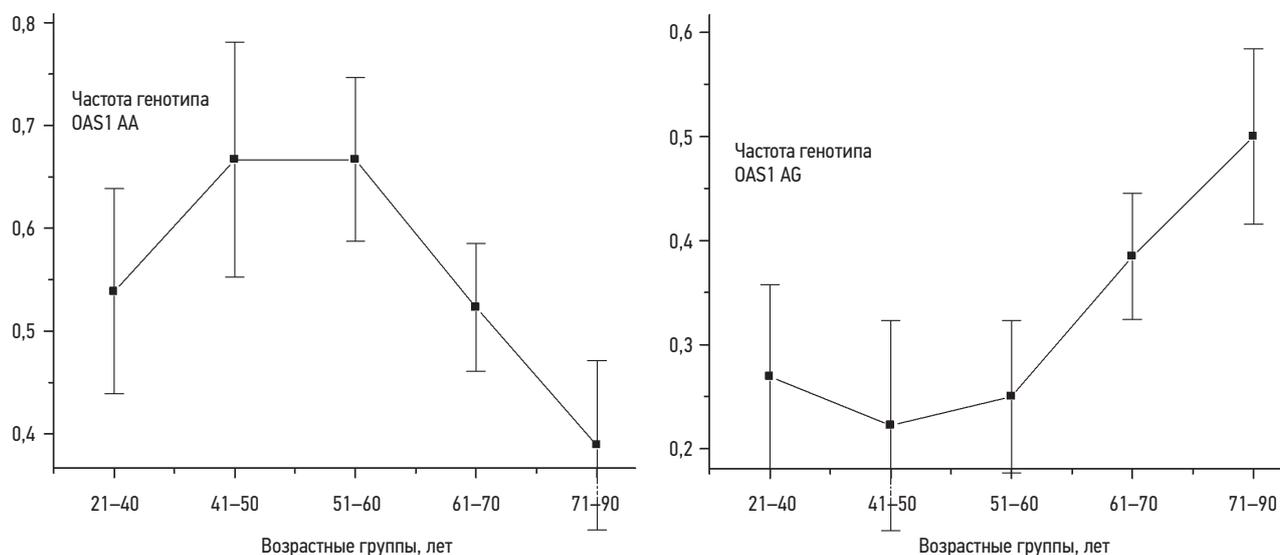


Рисунок. Частота встречаемости генотипов гена *OAS1* среди пациентов с COVID различного возраста: А – генотипа AA; Б – генотипа AG

канской популяции показано существенное преобладание аллеля А в интроне 5 гена *OAS1* (rs10774671), что авторы связывают с высокой восприимчивостью местного населения к инфекции SARS-CoV-2 [38]. Этот результат может быть связан с этническими особенностями населения и принципом отбора: обследовали не больных COVID, а здоровых лиц. Следует, однако, принять во внимание, что существуют 2 генных варианта *OAS1* – rs10774671 и rs1131454. Как показано в работе *J.E. Huffman et al.*, исследовавших частоту европейского (неандертальского) варианта сплайсинга *OAS1* (rs10774671), аллель G был ассоциирован с защитным эффектом при инфекции COVID-19 (частота аллеля G среди лиц европейского происхождения – 32%) [39]. В нашей группе пациентов частота аллеля G составила 46%, что находится в пределах этих значений.

В анализируемой выборке пациентов из Санкт-Петербурга с верифицированной коронавирусной инфекцией отмечена более высокая частота аллеля G и, в частности, гетерозиготности AG среди больных с более тяжелой клиникой и в группе с летальными исходами, что противоречит ранее опубликованным данным о протективном эффекте аллеля G гена *OAS1* при инфекции SARS-CoV-2. Это может быть связано с общим повышением частоты аллеля G гена *OAS1* в группе наших пациентов старшего возраста (> 60 лет). Однако у этих больных часто отмечались сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой, дыхательной и других систем, что могло оказать дополнительный модифицирующий эффект на исходы COVID-19.

Ремоделирование и восстановление сосудистой системы легких, в т. ч. после деструктивных воздействий коронавирусов, происходит при участии фактора роста эндотелия (VEGF). Для гена, кодирующего VEGF, обнаружен функциональный вариант в кодирующем сегменте +936T (rs3025039), который, по данным проведенного *G.G. Song et al.* метаанализа (834 пациента), ассоциирован с развитием васкулитов различного генеза [40]. Эта клинко-генетическая ассоциация выявляется в европейской популяции пациентов, которая была предметом и нашего клинического исследования.

Как известно, течение COVID-19 определяется тяжестью вирусной пневмонии, а угрожающие жизни осложнения связаны во многом с развитием у пациентов острой бронхоальвеолярной патологии. В связи с этим представляет интерес работа *R. Zhai et al.* [41], проведенная в Массачусетском госпитале (США), где оценивали роль генных вариантов *VEGF* в развитии ОРДС и его исходах. Определяли 3 варианта *VEGF* (2460C/T, +405C/G и +936C/T) у 1 253 пациентов с высоким риском ОРДС в ОРИТ, из которых ОРДС был диагностирован у 394 больных. Генотипы +936TT и +936CT+TT были достоверно ассоциированы со смертностью от ОРДС, что авторы связывают с пониженным содержанием VEGF в плазме крови. Это подтверждается нашими данными,

где наличие более редкого варианта *VEGF*+936T (rs3025039) было достоверно связано с более тяжелым течением и смертью пациентов с COVID-19.

Аллели гена аполипопротеина E (*ApoE2/3/4*) на протяжении многих лет изучаются как фактор, способствующий отложению липидных бляшек на стенке сосудов, нарушению функции гематоэнцефалического барьера и развитию сосудистой патологии, в частности, при коронавирусной инфекции. Показана ассоциация между вариантом *ApoE4* и более тяжелым течением COVID-19 с последующим развитием сосудистой церебральной патологии [42]. Аналогичная ассоциация между носительством *ApoE4* и тяжелым течением COVID-19 показана и в иранской популяции [43]. Среди возможных причин авторы обсуждают усиление синтеза цитокинов и других провоспалительных факторов при наличии указанного аллеля [44]. В обследованной нами группе пациентов не обнаружено подобной ассоциации *ApoE4* с тяжестью заболевания. Выявлен лишь минимальный уровень корреляции между тяжестью COVID и гомозиготным носительством *ApoE3/3*, что требует дополнительной проверки в более многочисленной группе пациентов среднего и пожилого возраста (≥ 60 лет).

Представляет интерес корреляция между полиморфизмом -174 G/C гена *IL6* и его концентрацией в крови пациентов. В острой фазе COVID-19 мы подтвердили связь между наличием аллеля G и повышенными уровнями IL-6 у пациентов, что, очевидно, обусловлено гиперактивацией данного промоторного аллеля и усиленной продукцией этого цитокина. В ряде работ показана связь генного полиморфизма *IL6* C (rs1800795) и хронической коронарной сосудистой патологии у пожилых лиц и подтверждена ранее проведенным метаанализом [45]. Концентрация IL-6 повышена у носителей аллеля C у лиц с хронической коронарной патологией [46]. В то же время сведения о связи данного полиморфизма с воспалительными процессами органов дыхания противоречивы. Сообщается о том, что вариант -174 G гена *IL6* ассоциирован с развитием синдрома активации макрофагов при COVID-19 ($p = 0,002$) [47]. Кроме того, показана повышенная частота аллеля G гена *IL6-174* при бронхиальной астме у детей, что предполагает его роль в развитии аллергических состояний респираторной системы [48]. Указанный генный вариант *IL6* может быть фактором предрасположенности к более тяжелому течению респираторной патологии.

Заключение

Носительство аллеля G (экзон 6, rs10774671) гена *OAS1* и аллеля +936T гена *VEGF* являются факторами, модифицирующими риск тяжелого течения и гибели пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 в группе пациентов среднего и пожилого возраста. Отмечена достоверная корреляция между генотипом GC гена *IL6* (rs1800795) и уровнем IL-6 в крови на пике заболевания. Исследование конкретных генных вариантов *OAS1* и *VEGF* у пациентов среднего и старшего воз-

раста, госпитализированных с COVID-19, показывает, что сведения об этих генных маркерах подлежат дальнейшему изучению в качестве критериев риска развития тяжелых форм и летальных исходов у пациентов в данных возрастных группах. Прогностическое значение вышеуказанных генных вариантов в клинике требует исследований в больших группах пациентов с COVID-19 и другими респираторными вирусными инфекциями. Будущие исследования могут касаться поиска взаимодействий ранее разработанных лекарств с их молекулярными мишенями с целью персонализации терапии вирусных заболеваний [49].

Литература

1. Zsichla L, Müller V. Risk factors of severe COVID-19: A review of host, viral and environmental factors. *Viruses*. 2023; 15 (1): 175. doi: 10.3390/v15010175.
2. O'Driscoll M., Ribeiro Dos Santos G., Wang L. et al. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. *Nature*. 2021; 590 (7844): 140–145. doi: 10.1038/s41586-020-2918-0.
3. Nakanishi T., Pigazzini S., Degenhardt F. et al. Age-dependent impact of the major common genetic risk factor for COVID-19 on severity and mortality. *J. Clin. Invest.* 2021; 131 (23): e152386. doi: 10.1172/JCI152386.
4. Caruso C., Marcon G., Accardi G. et al. Role of Sex and age in fatal outcomes of COVID-19: Women and older centenarians are more resilient. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (3): 2638. doi: 10.3390/ijms24032638.
5. Deb P., Zannat K.E., Talukder S. et al. Association of HLA gene polymorphism with susceptibility, severity, and mortality of COVID-19: A systematic review. *HLA*. 2022; 99 (4): 281–312. doi: 10.1111/tan.14560.
6. Degenhardt F., Ellinghaus D., Juzenas S. et al. Detailed stratified GWAS analysis for severe COVID-19 in four European populations. *Hum. Mol. Genet.* 2022; 31 (23): 3945–3966. doi: 10.1093/hmg/ddac158.
7. Gupta K., Kaur G., Pathak T., Banerjee I. Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*. 2022; 844: 146790. doi: 10.1016/j.gene.2022.146790.
8. Li P., Ke Y., Shen W. et al. Targeted screening of genetic associations with COVID-19 susceptibility and severity. *Front Genet.* 2022; 13: 1073880. doi: 10.3389/fgene.2022.1073880.
9. Wang Q.S., Edahiro R., Namkoong H. et al. The whole blood transcriptional regulation landscape in 465 COVID-19 infected samples from Japan COVID-19 Task Force. *Nat. Commun.* 2022; 13 (1): 4830. doi: 10.1038/s41467-022-32276-2.
10. Delanghe J.R., Speeckaert M.M. Host polymorphisms and COVID-19 infection. *Adv. Clin. Chem.* 2022; (107): 41–77. doi: 10.1016/bs.acc.2021.07.002.
11. Brest P., Refae S., Mograbi B. et al. Host polymorphisms may impact SARS-CoV-2 infectivity. *Trends Genet.* 2020; 36 (11): 813–815. doi: 10.1016/j.tig.2020.08.003.
12. Piva F., Sabanovic B., Cecati M., Giulietti M. Expression and co-expression analyses of TMPRSS2, a key element in COVID-19. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021; 40 (2): 451–455. doi: 10.1007/s10096-020-04089-y.
13. Beheshti Shirazi S.S., Sakhaee F., Sotoodehnejadnematalahi F. et al. rs12329760 Polymorphism in transmembrane serine protease 2 gene and risk of coronavirus disease 2019 mortality. *Biomed. Res. Int.* 2022; (2022): 7841969. doi: 10.1155/2022/7841969.
14. De Andrade C.C., Silva A.T.P., Vasconcelos L.R.S. et al. A polymorphism in the TMPRSS2 gene increases the risk of death in older patients hospitalized with COVID-19. *Viruses*. 2022; 14 (11): 2557. doi: 10.3390/v14112557.
15. Panda A.K., Padhi A., Prusty B.A.K. CCR5 Δ 32 minor allele is associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and death: an epidemiological investigation. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 510: 60–61. doi: 10.1016/j.cca.2020.07.012.
16. Huang I.-C., Bailey C.C., Weyer J.L. et al. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (1): e1001258. doi: 10.1371/journal.ppat.1001258.
17. Kim Y.C., Jeong B.H. Strong correlation between the case fatality rate of COVID-19 and the rs6598045 single nucleotide polymorphism (SNP) of the interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3) gene at the population-level. *Genes (Basel)*. 2020; 12 (1): 42. doi: 10.3390/genes12010042.
18. Gholami M., Sakhaee F., Sotoodehnejadnematalahi F. et al. Increased risk of COVID-19 mortality rate in IFITM3 rs6598045 G allele carriers infected by SARS-CoV-2 delta variant. *Hum. Genomics*. 2022; 16(1): 60. doi: 10.1186/s40246-022-00434-8.
19. Alghamdi J., Alaamery M., Barhoumi T. et al. Interferon-induced transmembrane protein-3 genetic variant rs12252 is associated with COVID-19 mortality. *Genomics*. 2021; 113 (4): 1733–1741. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.04.002.
20. Verma S., Verma S., Khan F.H., Siddiqi Z. et al. Genetic polymorphisms of IL6 gene -174G > C and -597G > A are associated with the risk of COVID-19 severity. *Int. J. Immunogenet.* 2023; 50 (1): 5–11. doi: 10.1111/iji.12605.
21. Traets M.J.M., Nijhuis R.H.T., Morré S.A. et al. Association of genetic variations in ACE2, TIRAP and factor X with outcomes in COVID-19. *PLoS One*. 2022; 17 (1): e0260897. doi: 10.1371/journal.pone.0260897.
22. Verma A., Minnier J., Wan E.S. et al. Million veteran program COVID-19 science initiative. A MUC5B gene polymorphism, rs35705950-T, confers protective effects against COVID-19 hospitalization but not severe disease or mortality. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2022; 206 (10): 1220–1229. doi: 10.1164/rccm.202109-2166OC.
23. Jafarpoor A., Jazayeri S.M., Bokharaei-Salim F. et al. VDR gene polymorphisms are associated with the increased susceptibility to COVID-19 among Iranian population: A case-control study. *Int. J. Immunogenet.* 2022; 49 (4): 243–253. doi: 10.1111/iji.12585

24. Zepeda-Cervantes J., Martínez-Flores D., Ramírez-Jarquín J.O. et al. Implications of the immune polymorphisms of the host and the genetic variability of SARS-CoV-2 in the development of COVID-19. *Viruses*. 2022; 14 (1): 94. doi: 10.3390/v14010094.
25. Ellinghaus D., Degenhardt F., Bujanda L. et al. Genomewide association study of severe COVID-19 with respiratory failure. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (16): 1522–1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283.
26. Soto M.E., Fuentesvilla-Álvarez G., Palacios-Chavarría A. et al. Impact on the clinical evolution of patients with COVID-19 pneumonia and the participation of the NFE2L2/KEAP1 polymorphisms in regulating SARS-CoV-2 infection. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 24 (1): 415. doi: 10.3390/ijms24010415.
27. Verma A., Tsao N.L., Thomann L.O. et al. A phenotype-wide association study of genes associated with COVID-19 severity reveals shared genetics with complex diseases in the Million Veteran Program. *PLoS Genet.* 2022; 18 (4): e1010113. doi: 10.1371/journal.pgen.1010113.
28. Marçalo R., Neto S., Pinheiro M. et al. Evaluation of the genetic risk for COVID-19 outcomes in COPD and differences among worldwide populations. *PLoS One*. 2022; 17 (2): e0264009. doi: 10.1371/journal.pone.0264009.
29. Глогов О.С., Чернов А.Н., Щербак С.Г., Баранов В.С. Генетические факторы риска развития коронавирусной инфекции COVID-19. *Генетика*. 2021; 57 (8): 871–886. doi: 10.31857/S0016675821080051.
30. Колюбаева С.Н., Кондратенко А.А., Алхаже К. и др. Исследование полиморфизма генов HLA-DRB1 и IL28 у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) различной степени тяжести. *Гены и Клетки*. 2021; 16 (3): 86-90. doi: 10.23868/202110012.
31. Veerabathiran R., Ragunath B., Kaviarasan V. et al. Identification of selected genes associated with the SARS-CoV-2: a therapeutic approach and disease severity. *Bull. Natl. Res. Cent.* 2021; 45 (1): 79. doi: 10.1186/s42269-021-00540-y.
32. Horhat F.G., Gundogdu F., David L.V. et al. Early evaluation and monitoring of critical patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) using specific genetic polymorphisms. *Biochem. Genet.* 2017; 55 (3): 204–211. doi:10.1007/s10528-016-9787-0.
33. Dos Santos A.C.M., Dos Santos B.R.C., Dos Santos B.B. et al. Genetic polymorphisms as multi-biomarkers in severe acute respiratory syndrome (SARS) by coronavirus infection: A systematic review of candidate gene association studies. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 93: 104846. doi: 10.1016/j.meegid.2021.104846.
34. Mir M.M., Mir R., Alghamdi M.A.A. et al. Strong association of angiotensin converting enzyme-2 gene insertion/deletion polymorphism with susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, coronary artery disease and COVID-19 disease mortality. *J. Person. Med.* 2021; 11 (11): 1098. doi: 10.3390/jpm11111098.
35. Zhong L., Xie Y.Z., Cao T.T. et al. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. *Mol. Neurodegener.* 2016; 11: 2. doi: 10.1186/s13024-016-0069-4.
36. Banday A.R., Stanifer M.L., Florez-Vargas O. et al. Genetic regulation of OAS1 nonsense-mediated decay underlies association with COVID-19 hospitalization in patients of European and African ancestries. *Nat. Genet.* 2022; 54 (8): 1103–1116. doi: 10.1038/s41588-022-01113-z.
37. Bonnevie-Nielsen V., Field L.L., Lu S. et al. Variation in antiviral 2',5'-oligoadenylate synthetase (2'5'AS) enzyme activity is controlled by a single-nucleotide polymorphism at a splice-acceptor site in the OAS1 gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 76 (4): 623-633. doi: 10.1086/429391.
38. Sánchez-González M.T., Cienfuegos-Jiménez O., Álvarez-Cuevas S. et al. Prevalence of the SNP rs10774671 of the OAS1 gene in Mexico as a possible predisposing factor for RNA virus disease. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2021; 12 (3): 52–60.
39. Huffman J.E., Butler-Laporte G., Khan A. et al. Multi-ancestry fine mapping implicates OAS1 splicing in risk of severe COVID-19. *Nat. Genet.* 2022; 54 (2): 125–127. doi: 10.1038/s41588-021-00996-8.
40. Song G.G., Kim J.H., Lee Y.H. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and vasculitis susceptibility: A meta-analysis. *Hum. Immunol.* 2014; 75 (6): 541–548. doi: 10.1016/j.humimm.2014.02.022.
41. Zhai R., Gong M.R., Zhou W. et al. Genotypes and haplotypes of the VEGF gene are associated with higher mortality and lower VEGF plasma levels in patients with ARDS. *Thorax*. 2007; 62 (8): 718–722. doi: 10.1136/thx.2006.069393.
42. Kurki S.N., Kantonen J., Kaivola K. et al. APOE ε4 associates with increased risk of severe COVID-19, cerebral microhaemorrhages and post-COVID mental fatigue: a Finnish biobank, autopsy and clinical study. *Acta Neuropathol. Commun.* 2021; 9 (1): 199. doi: 10.1186/s40478-021-01302-7.
43. Safdari Lord J., Soltani Rezaiezhadeh J., Yekani-nejad M.S. et al. The association of APOE genotype with COVID-19 disease severity. *Sci. Rep.* 2022; 12 (1): 13483. doi: 10.1038/s41598-022-17262-4.
44. Kasparian K., Graykowski D., Cudaback E. Commentary: APOE e4 genotype predicts severe COVID-19 in the UK Biobank Community Cohort. *Front. Immunol.* 2020; (11): 1939. doi: 10.3389/fimmu.2020.01939.
45. González-Castro T.B., Hernández-Díaz Y., Pérez-Hernández N. et al. Interleukin 6 (rs1800795) gene polymorphism is associated with cardiovascular diseases: a meta-analysis of 74 studies with 86,229 subjects. *EXCLI J.* 2019; (18): 331–355. doi: 10.17179/excli2019-1248.
46. Satti H.S., Hussain S., Javed Q. Association of interleukin-6 gene promoter polymorphism with coronary artery disease in Pakistani families. *Sci. World J.* 2013; (2013): 538365. doi: 10.1155/2013/538365.
47. Kerget F., Kerget B. Frequency of interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) polymorphisms in COVID-19 patients in Turkey who develop macrophage activation syndrome. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2021; 74 (6): 543–548. doi: 10.7883/yoken.JJID.2021.046.

48. Babusikova E., Jurecekova J., Jesenak M., Evino-va A. Association of gene polymorphisms in interleukin 6 in infantile bronchial asthma. Arch. Bronconeumol. 2017; 53 (7): 381–386. doi: 10.1016/j.arbr.2016.11.006.

49. Zambrana C., Xenos A., Böttcher R. et al. Network neighbors of viral targets and differentially expressed genes in COVID-19 are drug target candidates. Sci. Rep. 2021; 11 (1): 18985. doi: 10.1038/s41598-021-98289-x.

Информация об авторах

Титова Ольга Николаевна — д. м. н., профессор, директор НИИ пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; тел.: (812) 338-78-40; e-mail: titova-on@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/orcid.org/0000-0003-4678-3904>)

Кузубова Наталия Анатольевна — д. м. н., зам. директора НИИ пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицин-

ский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; тел.: (921) 933-51-83; e-mail: kuzubova@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-1166-9717>)

Волчкова Елизавета Владимировна — аспирант кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; тел.: (812) 591-79-11; e-mail: elizavetavolch@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/orcid.org/0000-0001-6712-5121>)

Чухловин Алексей Борисович — д. м. н., профессор, зав. отделом трансплантологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; тел.: (921) 325-00-94; e-mail: alexei.chukh@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9449-574X>)