

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

DOI: 10.26693/jmbs05.03.010

УДК 575:578.834.11–577.2.01

Федота А. М.¹, Скрипкина И. Я.²

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К 2019-nCoV/ SARS-CoV-2 У ЧЕЛОВЕКА

¹Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

²Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

omfedota@karazin.ua

Генетический полиморфизм представителей разных этнических, возрастных групп и разного пола определяет отличия по степени восприимчивости к SARS-CoV - наивысшие показатели степени тяжести и смертности COVID-19 наблюдаются при наличии сопутствующих заболеваний, у пациентов мужского пола, у пациентов пожилого возраста. У человека описана возможность рецепции SARS-CoV-2 ACE2, экспрессия которого отмечена в тканях ряда органов. Доказана обогащенность рецептором эпителиальных клеток языка, что может объяснять основной механизм высокого риска восприимчивости к 2019-nCoV ротовой полости. Плейотропный эффект гена ACE2 выражается в его способности определять несколько признаков – выступать в качестве рецептора коронавируса и выполнять функции фермента ренин-ангиотензиновой системы. Полиморфизм гена ACE2 определяет возможности взаимодействия рецептора и вируса, характер его экспрессии, предрасположенность к развитию кардиометаболического синдрома. Различия в уровне экспрессии ACE2 у лиц разного пола, возраста, этноса могут быть причиной разной подверженности к инфицированию SARS-CoV2 и степени тяжести COVID-19 среди разных групп населения. Представлены аргументы в пользу защитной роли высокой экспрессии ACE2 против летального исхода при SARS-CoV2-инфекции - определена обратная связь между летальностью при Covid-19 и уровнем экспрессии ACE2. Пациенты с группой крови А имеют риск в 1,2 раза выше, чем пациенты с дру-

гими группами крови, более тяжелого течения заболевания, а пациенты с группой крови О имеют риск, в 0,67 раз меньший развития тяжелого течения Covid-19. Актуальность применения молекулярно-генетических тестов в диагностике вирусной инфекции обусловлена их высокой чувствительностью, возможностью работы с различными биологическими образцами, быстрым получением результата. Наряду с традиционными методами противовирусной терапии, перспективным направлением является применение стволовых клеток разных типов в лечении осложнений, дегенеративных процессов дыхательной системы, COVID-19. Изучение генетических особенностей собственного населения, развитие системы молекулярного тестирования генетических и инфекционных заболеваний являются приоритетными направлениями повышения уровня генетической безопасности населения каждой страны.

Ключевые слова. SARS-CoV, Covid-19, генетический полиморфизм, экспрессия ACE2, группы риска.

Вирус 2019-nCoV/ SARS-CoV-2 и рецепция

В декабре 2019 года в Китае (China, Wuhan) были зарегистрированы пациенты с вирусной пневмонией, обусловленной неизвестным инфекционным агентом. Этот вирус был идентифицирован как патоген и назван 2019-nCoV [1].

Инфицирование SARS-CoV-2 и развитие патологических процессов в организме зависят от взаимодействия между вирусом и иммунной системой

человека. Вирусный фактор включает тип вируса и мутацию, вирусную нагрузку, титр вируса и жизнеспособность вируса *in vitro*. Факторы иммунной системы человека - его генетические характеристики (генотип по генам системы HLA и другим), этнос, возраст, пол, тип питания, особенности нейроэндокринно-иммунной регуляции и физический статус. Эти факторы определяют возможность заражения вирусом, длительность и степень тяжести заболевания, возможность повторного заражения [2].

Китайские ученые секвенировали последовательности образцов, полученных из дыхательных путей больных, провели филогенетический анализ полученных геномов и гомологическое моделирование для идентификации вируса, определения его вероятного происхождения и эволюции, изучения его вероятных рецептор-связывающих свойств.

2019-nCoV показал высокую степень идентичности (88%) с двумя SARS-подобными коронавирусами - bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21, и меньшую - с SARS-CoV (около 79%) и MERS-CoV (около 50%). Структура рецептор-связывающего домена 2019-nCoV и SARS-CoV сходны. Важной информацией стало предположение о возможности связывания 2019-nCoV с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2 (АПФ2, angiotensin-converting enzyme 2, ACE 2) человека [3].

Изучены и другие рецепторы, которые могут связываться с SARS-CoV-2. Анализ генов трех рецепторов - *DC-SIGN*, *L-SIGN* и *ACE2* показал, что отмечается более высокий уровень экспрессии гена *L-SIGN* у европеоидов, по сравнению с жителями Азии, гена *DC-SIGN* - у лиц в возрасте старше 60 лет, у курильщиков, особенно со стажем. У последних отмечена также повышенная экспрессия гена *ACE2*. Исследователи заключили, что курильщики и лица старше 60 лет будут более восприимчивы к SARS-CoV-2 и составляют группу риска [4].

В то же время большинство авторов связывают возможность рецепции SARS-CoV-2 у человека с *ACE2*. Плейотропный или множественный эффект гена *ACE2* делает актуальным анализ накопленных эпидемиологических и генетических данных относительно SARS-CoV-2, CoviD-19 и мультифакториальных патологий человека.

ACE2, представленный как рецептор отдельных коронавирусов - SARS-CoV-2 и SARS-CoV, является ферментом, ключевым регулятором ренин-ангиотензиновой системы (РАС). РАС вносит вклад в патофизиологию заболеваний сердечно-сосудистой, эндокринной, выделительной систем. Блокада РАС является важной терапевтической

стратегией в лечении патологий этих групп. *ACE2*, в норме действуя как протеаза для расщепления ангиотензина II, поддерживает артериальное давление, частоту сердечных сокращений и осмотическое давление [5-6].

Экспрессия *ACE2* у человека осуществляется в тканях тонкого кишечника, двенадцатиперстной кишки, желчного пузыря, почек, яичек, сердца, толстого кишечника, печени, в жировой ткани [7]. По данным китайских исследователей 2020 года, *ACE2* экспрессируется на слизистых ротовой полости. Наиболее обогащены рецептором эпителиальные клетки языка, что объясняет основной механизм высокого риска восприимчивости к 2019-nCoV ротовой полости человека, в том случае, когда *ACE2* является основным клеточным рецептором к данному вирусу и играет решающую роль в проникновении вируса в клетку и ее инфицировании [8].

Плейотропные эффекты *ACE2*

Уровень экспрессии *ACE2* у человека в различных тканях может быть критическим для восприимчивости, клинических проявлений и исхода при инфекции 2019-nCoV / SARS-CoV-2. Уровень экспрессии *ACE2* зависит от ряда факторов, в том числе его генетических особенностей [9]. Таким образом, полиморфизм гена *ACE2* определяет как характер его экспрессии, так и возможности взаимодействия рецептора и вируса.

Китайские исследователи проанализировали около четырех десятков полиморфных вариантов (однонуклеотидных полиморфизмов, SNPs) гена *ACE2*, потенциально влияющих на аминокислотную последовательность белка, частоты аллелей которых у жителей Китая отличаются от показателей африканского, американского, особенно европейского населения [9].

Различные генетические варианты *ACE2* детерминируют показатели уровня, циркулирующего *ACE2*, ангиотензина (1-7), ангиотензина (1-9). Редкие аллели полиморфных вариантов rs2074192 и rs2106809 связаны со снижением уровня циркулирующего ангиотензина (1-7) [10].

В восточноазиатских популяциях частоты аллелей по SNPs, которые связаны с более высоким уровнем экспрессии *ACE2* в различных тканях, существенно выше, что может быть аргументом как в пользу данных о различной восприимчивости или ответе к/на 2019-nCoV / SARS-CoV-2 у представителей различных этнических групп в сходных условиях [9], так и в пользу о разной степени предрасположенности к мультифакториальным патологиям.

ACE2 и кардиометаболический синдром

Традиционно однонуклеотидные полиморфизмы гена *ACE2* изучались для установления их связи с развитием сердечно-сосудистой и цереброваскулярной патологии - артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, инсульта и других.

В последние годы китайскими учеными представлены данные об ассоциации генотипов по гену *ACE2* с показателями артериального давления, с развитием гипертрофии левого желудочка. Предложены SNPs - rs2074192, rs2106809 и гаплотипы – CCGC, TCGT как маркеры риска гипертрофии левого желудочка у пациентов с гипертонической болезнью [11].

Показана ассоциация SNPs rs1514283, rs4646155, rs4646176, rs2285666 и rs879922 гена *ACE2* с эссенциальной гипертензией у женщин - уровень активности *ACE2* прямо связан с концентрацией *ACE2*, уровнем глюкозы и эстрогена у больных женщин, обратно - с индексом массы тела, диастолическим и пульсовым давлением. По мнению авторов, показатели активности *ACE2* могут выступать предикторами развития сердечной дисфункции у пациентов с эссенциальной гипертензией [12]. Отдельные генотипы повышают риск развития эссенциальной гипертензии в 1,13-4,86 раз [13].

Увеличение уровня экспрессии *ACE2* отмечается при сердечной недостаточности и при атеросклеротическом поражении сосудов. Активность циркулирующего *ACE2* возрастает при ишемической болезни сердца. При этом вариации уровня *ACE2* в плазме крови обусловлены в основном генотипами больных [14].

Для поиска связи гена *ACE2* с развитием и рецидивами инсульта китайские авторы проанализировали в качестве кандидатных четыре SNPs - rs2106809, rs2285666, rs879922 и rs2074192. Гаплотип A-G-C может ассоциироваться с рецидивом инсульта у пациентов мужского пола. Риск рецидива у мужчин с гипертензией, инсультом и аллелем rs2285666-C почти в три раза выше, чем у пациентов без гипертонии и с аллелем T. Риск рецидива у лиц с аллелем rs2106809-A в 2,12 раза выше, чем у пациентов с аллелем G [15].

В последние годы вызывают интерес данные о влиянии полиморфных вариантов гена *ACE2* на развитие сахарного диабета 2-го типа и сердечно-сосудистых осложнений, что было показано на примере SNPs rs1978124, rs2048683, rs2074192, rs233575, rs4240157, rs4646156, rs4646188 и rs879922 [6].

Для европеоидов с сахарным диабетом 2-го типа описаны SNPs гена *ACE2*, генотипы по которым связаны с гипертонией у мужчин, с гипертонией

и увеличением массы левого желудочка у женщин [16].

Общая генетическая основа - SNPs генов, в том числе и *ACE2*, связанных с сахарным диабетом 2-го типа и сердечно-сосудистой патологией, показывает этническую и географическую специфичность [6].

Популяционные аспекты патологий, ассоциированных с ACE2

Анализ популяционных аспектов кардиоваскулярных и метаболических нарушений показывает, что наиболее высокие показатели распространенности сахарного диабета отмечаются в странах Восточной Азии, Ближнего и Среднего Востока, Средиземноморья, что связано с генетическими и средовыми - экономическими, социокультурными, климатогеографическими особенностями населения и регионов [17].

Китай занимает первое место в мире по числу больных сахарным диабетом 2-го типа, его распространенность среди взрослого населения составляет 10,9% [12].

В Италии сахарный диабет зарегистрирован у 5,3% от общей численности населения [18]. В Украине, по данным International Diabetes Foundation and Diabetes Atlas, - у 7,6% [19]. При этом во всех странах возраст начала патологии показывает тенденцию к снижению и отмечается существенный недоучет больных.

Показатели распространенности гипертонии, как продемонстрировали исследователи на примере Китая, выше в более северных, чем в южных населенных пунктах - 32,4% в Хэйлунцзяне, 26,1% в Хэнани, 15,8% в Гуандуне. По мнению авторов, низкая температура, как климатическая характеристика, является известным фактором риска высокого артериального давления и дальнейшей цепи событий для населения более холодных регионов [20].

Таким образом, генетические особенности населения, которые сформировались в процессе эволюции человека, повысив его адаптивность, в настоящее время могут выступать факторами генетического груза, в том числе и при инфекционной нагрузке.

Дифференциальная восприимчивость к вирусу и группы риска

Исследования показали, что представители разных этнических, возрастных групп и разного пола отличаются по степени восприимчивости к SARS-CoV - наивысшие показатели степени тяжести и смертности от вирусной инфекции отмечены при коморбидных состояниях, у мужчин, у пожилых

людей [21]. Представляется актуальным анализ биологических основ отмеченных закономерностей.

Как на популяционном, так и на индивидуальном уровнях определена обратная связь между летальностью при Covid-19 и уровнем экспрессии ACE2. Ранее было описано, что высокий уровень экспрессии ACE2 имеет отрицательную связь с подверженностью к различным вирусным инфекциям, в том числе к вирусу герпеса 1 [22].

Этнические особенности. Авторы отмечают значительно более высокую экспрессию ACE2 у азиатских женщин по сравнению с мужчинами и представителями других этнических групп, индукцию экспрессии под воздействием эстрогенов и андрогенов, репрессию экспрессии ACE2 с увеличением возраста, при сахарном диабете II типа, под действием воспалительных цитокинов [22].

У женщин отмечена более выраженная экспрессия ACE2 в жировой ткани, тканях надпочечников, сердца и пищевода и умеренно более высокая - в тканях сосудов, легких, мышц и яичников по сравнению с мужчинами и представителями других этнических групп. Высокая экспрессия ACE2 у азиатских женщин, которая снижается с возрастом меньше, чем у мужчин, предположительно обусловлена генотипами по ACE2, распространенными в Восточной Азии.

Авторы заключают, что их результаты создали контраргумент против идей о негативном участии ACE2 в неблагоприятном течении и исходах CoVID-19 и поддерживают защитную роль высокой экспрессии ACE2 против летального исхода при SARS-CoV2-инфекции [22].

Различия в уровне экспрессии ACE2 в различных этнических группах, которые детерминированы генетически, могут быть причиной разной подверженности к инфицированию SARS-CoV2 и степени тяжести COVID-19 у населения разных стран.

Половозрастные особенности. Количественные и качественные показатели ACE2, которые способствуют восприимчивости и тяжести болезни, могут быть связаны с локализацией гена. Ген ACE2 находится в X-хромосоме генома человека, насчитывает 18 экзонов, кодирует белок из 805 аминокислот (OMIM 300335). Сцепление с полом подразумевает разные частоты аллелей гена у лиц мужского и женского пола и различные сценарии реализации генотипа в фенотипическую картину.

Необходимо отметить также особенности гормонального статуса у лиц разного пола - на модельных объектах было показано, что лечение эстрогенами увеличивает экспрессию ACE2 в среднем в 1,274 раза, тогда как андроген (тестостерон) увеличивает показатель в среднем в

0,533 раза [6], что согласуется с данными китайских авторов. В январе 2020 года соотношение полов в выборке пациентов с подтвержденным Covid-19 в Ухане составило 2,7:1 в пользу лиц мужского пола [1].

Анализ выборки в 44 672 пациентов в Китае показал, что мужчины составили 51,4% от общего числа больных, но 63,8% - от числа всех смертей от Covid-19. Лица старше 50 лет составили почти половину от общего числа подтвержденных случаев, при этом большинство смертельных случаев пришлось на возрастных мужчин [22]. Каждый год возраста больного увеличивал риск госпитальной смерти в 1,1 раза [23].

Группы крови системы ABO. К настоящему времени множество работ посвящено связи групп крови системы ABO с иммунным ответом человека и отбором, которой возникает из-за дифференциальной восприимчивости к инфекционным заболеваниям.

Различия в экспрессии антигена группы крови увеличивают или уменьшают восприимчивость хозяина ко многим инфекциям. Белки, определяющие группы крови, могут выступать в качестве рецепторов и / или корецепторов микроорганизмов, паразитов и вирусов - многие антигены облегчают внутриклеточное поглощение, передачу сигнала или адгезию посредством организации мембранных микродоменов [24].

В настоящее время известно, что группа крови В связана с более низким риском заражения гепатитом В, у лиц с группой крови О риск инфицирования гепатитом В увеличивается в 1,12 раз [25-26].

По данным анализа информации о больных, находившихся на лечении в трех больницах Уханя и Шэньчжэня в Китае, распределение частот групп крови А, В, АВ и О системы ABO среди них составило 37,75%, 26,42%, 10,03% и 25,80% против 32,16%, 24,90%, 9,10% и 33,84% у здорового населения. Возраст и пол не оказали влияния на распределение. Если учитывать, что в больницах проходили лечение больные с более тяжелыми формами вирусного заболевания, то пациенты с группой крови А имеют риск в 1,2 раза выше, чем пациенты со всеми остальными группами крови, более тяжелого течения заболевания, а пациенты с группой крови О имеют риск, в 0,67 раз меньший развития тяжелого течения Covid-19. [27].

Патологии. По данным The Lancet, [23], коморбидный статус отмечен у 48% пациентов, гипертония у 30% пациентов, сахарный диабет - у 19%, ишемическая болезнь сердца - у 8%.

Сопутствующие заболевания примерно у четверти пациентов с Covid-19 в Китае предрасполагали к ухудшению прогноза. У больных отмечались

гіпертонія, серцево-судинні та цереброваскулярні порушення, цукровий діабет, гепатит В, хронічна обструктивна хвороба легень, хронічні захворювання нирок, онкопатології та імуннодефіцитні стани.

Після поправки на вік та статус куральника, ризик погіршення клінічних результатів для хворих з хронічною обструктивною хворобою легень, цукровим діабетом, гіпертонією та злоякісними новоутвореннями збільшувався в 2,7, 1,6, 1,6 та 3,5 рази, відповідно. Порівняно з пацієнтами без супутньої патології для хворих з однією патологією такий ризик склав - 1,79, з двома та більше - 2,59 [28].

Особливу актуальність для вивчення представляють особливості вразливості SARS-CoV осіб будь-якого віку з багатьох можливих груп ризику - хворих з імуннодефіцитними станами та іншими патологіями, впливними на імунологічний статус; пацієнтів, що проходять терапію, що послаблює якусь частину імунної системи; осіб, що мають генетично детерміновану схильність до інших захворювань; осіб з багатьма групами орфанних захворювань.

Слід зазначити також, що багато генетичні захворювання, особливо моногенні, та наявність мутацій, що є факторами ризику, поширені в популяціях з високими показниками інбридингу, що особливо характерно для населення сільської місцевості внаслідок економічних причин та культурних традицій. В Україні зміни генетико-демографічних показників вказаного напрямку відзначаються з 90-х років ХХ століття, що втягає за собою підвищення поширеності важких моногенних та мультифакторіальних, хронічних неінфекційних захворювань, зокрема таких, що пов'язані з порушеннями імунної системи, у осіб різних вікових груп, зокрема та молодших.

Особливості діагностики

В даний час діагностика Covid-19 ускладнена через неспецифічність симптомів. У пацієнтів відзначаються клінічні прояви, що включають лихоманку, непродуктивний кашель, одышку, міалгію, втому, нормальне або знижене вміст лейкоцитів та рентгенологічні дані пневмонії, подібні до симптомів інфекції SARS-CoV та MERS-CoV [29, 30]. Захворівання може протікати практично безсимптомно або дуже схоже на ОРВІ, особливо у молодших вікових груп. В той же час, ці хворі можуть бути переносниками вірусу для інших людей, при безпосередньому спілкуванні або через предмети та матеріали в місцях громадського

використання. В зв'язі з цим для діагностики Covid-19 необхідні додаткові дослідження, здатні не тільки підтвердити діагноз, а й виявити потенціальних носіїв 2019-nCoV / SARS-CoV-2.

Однією з таких систем діагностики є тести, засновані на виявленні вірусних антигенів або імуноглобулінів (IgM/IgG), що виробляються імунною системою людини в відповідь на наявність в ній збудника. В даний час поруч з компаніями розроблені набори ІФА на основі IgM/IgG до SARS-CoV-2, але ці дані стосовно показників їх чутливості ще недостатньо вивчені та не опубліковані.

Раніше були розроблені тести ІФА на основі IgM/IgG до двох білків SARS-CoV: нуклеокапсидного білка N та шипового білка S. Чутливість систем ІФА на основі IgG до N-білка SARS-CoV була значно вище (94,7%), ніж ІФА на основі S-білка SARS-CoV (58,9%) [31]. В той же час, розробники змогли досягти чутливості ІФА в 94,3% до SARS-CoV, а тільки 59,4% чутливості для ІФА IgM [32].

Ці тести є достатньо простими в застосуванні та дають можливість швидкого отримання відповіді, впродовж години. Однак вони відрізняються низькою чутливістю в першу чергу через те, що антитіла до вірусу виробляються приблизно на 5-10 день захворювання, тобто виявити їх на початкових етапах при SARS-CoV2-інфекції практично неможливо. Ці системи дозволяють здійснити детекцію вірусу у людей з вираженими симптомами, тому такий тест призначений «для прийняття швидкого рішення» лікарем. Навіть позитивний результат потребує додаткового підтвердження ПЦР-тестом. Таким чином, розробка інших чутливих та специфічних допоміжних методів є суттєвою задачею для діагностики Covid-19.

В зв'язі з цим в протоколах визначення вірусу особливу роль відводиться тест-системам на основі полімеразної ланцюгової реакції, яку проводять в режимі реального часу (РТ-кПЦР). Оскільки SARS-CoV2 є РНК-вміщуючим вірусом [33], для підвищення специфічності та чутливості, кПЦР проводять одночасно з оберненою транскрипцією «в одній пробірці» (РТ ОТ-кПЦР). Цей метод займає більше часу, ніж ІФА, однак чутливість його вище, а в залежності від використовуваного протоколу, може досягати 91,7% [34, 35]. Крім того, ОТ-кПЦР, на відміну від методу, заснованого на визначенні імуноглобулінів крові, можна використовувати для виявлення вірусу в мокроті

пациента - в слюне, мокроте трахеи, мазке из носоглотки и носа, что делает его еще и менее инвазивным. При диагностике SARS-CoV2 на основе ОТ-кПЦР используют наборы со специфическими праймерами и зондами в областях генов *ORF1ab*, *N* или *S* [34,35].

Несмотря на то, что этот метод более трудоемкий и занимает больше времени, его специфичность и возможность выявления бессимптомных носителей ставят его на первое место в диагностике SARS-CoV2-инфекции. Кроме того, неинвазивность РТ кПЦР позволяет часто использовать его не только для диагностики, но и для мониторинга состояния пациента на этапах лечения. Использование образцов слюны или бронхиальной жидкости может снизить риск внутрибольничной передачи SARS-CoV-2, в том числе и медперсоналу [36]. Использование слюны позволяет собирать образцы за пределами больниц, где нет инфекционных изоляторов. В условиях, где большое количество лиц нуждается в обследовании, сбор слюны можно провести быстро и без участия специально обученного медперсонала. Лицо, находящееся на подозрении в инфицировании SARS-CoV2, может самостоятельно взять образец мокроты в специальный герметически закрывающийся контейнер и передать его курьеру для анализа, не выходя из дома в случае, когда он находится на домашнем лечении. Использование таких возможностей особенно важно в напряженных клинических условиях, когда количество имеющегося медицинского персонала ограничено.

В настоящее время мировые разработчики тест-систем прилагают максимум усилий по созданию экспресс-тестов на основе высокочувствительной ОТ-кПЦР-системы. Так, в марте 2020 г. Управление по санитарному контролю за качеством продуктов и лекарств США (FDA) утвердило первый диагностический экспресс-тест фирмы Serheid на выявление коронавируса в образцах мазка из носоглотки и носа/аспирата, результаты которого можно получить за 45 минут (<https://www.fda.gov/media/136316/download>). В настоящее время имеется 22 зарегистрированные тест-системы различных фирм-производителей (<https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/emergency-use-authorizations#-covid19ivd>). Наибольший интерес представляет экспресс-система ID NOW COVID-19 («Abbott Diagnostics Scarborough, Inc»), основанная на новой технологии детекции вирусных генов, которая, в случае позитивного результата, позволяет получить ответ за 5 минут. Тест-система разработана для обнаружения гена SARS-CoV2 RdRp в образцах, взятых из горла, носа, носоглотки и ротоглотки. Сейчас она доступна только в США и, кроме

того, проведение тестирований требует специального оборудования, которое отсутствует в учреждениях охраны здоровья в Украине.

Перспективы лечения

Несмотря на то, что новый инфекционный агент относится к семейству коронавирусов, два из которых уже вызывали эпидемии - SARS-CoV и MERS-CoV, не только диагностика, но и лечение COVID-19 не имеет однозначного протокола. В настоящее время не существует клинически доказанных специфических противовирусных средств для инфекции SARS-CoV-2. Применяются методы лечения, основанные на предыдущем опыте по предотвращению SARS- и MERS-инфекций: кислородная терапия, использование антибиотиков широкого спектра действия для покрытия вторичной бактериальной инфекции [29]. Согласно исследованиям молекулярных механизмов коронавирусной инфекции [3] и геномной организации SARS-CoV-2 [37], существует несколько потенциальных терапевтических целей, которые позволяют переработать существующие противовирусные средства или разработать эффективные меры против нового коронавируса.

В первую очередь, это препараты и их комбинации для противовирусной терапии. Часть из них нацелены на ингибирование синтеза вирусной РНК - ремдесивир, хлорохин, фавипиравир, рибавирин, галадесивир и являются аналогами нуклеозидов [38-40]. Другие препараты используются для ингибирования белков репликации вируса [41-44]. Поскольку ACE2 опосредует поступления SARS-CoV-2 в клетку как функциональный рецептор коронавирусов [45], блокирование связывания S белка с ACE2 также является значимой стратегией против инфекции SARS-CoV-2.

В настоящее время одним из эффективных способов лечения коронавируса является переливание зараженным плазмы крови от выздоравливающих доноров, у которых, очевидно, выработались антитела на SARS-CoV-2, о чем было сообщено рядом китайских врачей.

Среди поддерживающих методов лечения синдрома острого дыхательного расстройства, вызванного инфекцией SARS-CoV-2, перспективные результаты показало также использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК), в первую очередь тех, которые не имеют на своей поверхности рецептор ACE2 (МСК^{ACE}), с которым непосредственно связывается вирус [36].

Иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства мезенхимальных стволовых клеток при лечении дегенеративных процессов дыхательной системы ранее подтвердились 15-ю завершёнными клиническими испытаниями. Более 50 новых испытаний продолжается. Результаты научных

исследований подчеркивают, что эти клетки не могут быть замещены другими лекарственными средствами при лечении дегенеративных процессов дыхательной системы.

У тяжелобольных пациентов с CoviD-19, после введения MCK-ACE состояние значительно улучшилось благодаря уменьшению воспаления и улучшению дыхания. Следует также отметить, что сократилось количество лейкоцитов и инфильтрация легких, вызванная пневмонией. В дальнейшем тесты показывали отрицательный результат на наличие SARS-CoV-2 [46, 47].

В Китае зарегистрировано 14 клинических исследований, в которых изучается эффективность стволовых клеток разных типов в лечении CoviD-19.

В настоящее время есть сообщения о 8 пациентах, которых успешно вылечили от тяжелой формы CoviD-19 с помощью мезенхимальных стволовых клеток плаценты, не имеющих на своей поверхности рецептора ACE2.

Создание эффективной вакцины против SARS-CoV-2 имеет важное значение для уменьшения инфицирования, снижения степени тяжести заболевания, для контроля вспышек коронавирусной инфекции. На данном этапе над поиском вакцины от CoviD-19 работают более 50 фармацевтических

и исследовательских компаний. Несмотря на определенные успехи, разработка вакцин является долгосрочной работой.

Заключение. Исходя из опыта, полученного при предыдущих известных вспышках коронавирусных инфекций, таких, как MERS-CoV и SARS-CoV, для подготовки к дальнейшим вспышкам заболевания и для эффективной борьбы с инфекцией внимание должно быть сосредоточено в первую очередь на быстрой и эффективной диагностике для выявления подозреваемых случаев и прогнозирования осложнений, которые могут быть вызваны эволюцией вируса в ходе эпидемии COVID-19, у лиц любого возраста, особенно из групп риска.

Недостаточность или отсутствие научных данных о генетических характеристиках больных и о здоровом населении нашей страны создает серьезную угрозу личной и популяционной генетической безопасности населения, одной из составляющих безопасности государства в целом. Представляется актуальным формирование системы и программ генетического тестирования населения для развития персонализированной фармакотерапии, прогнозирования групп риска и профилактики роста численности больных и носителей, планирования демографической политики, социальных и просветительских программ.

References

1. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*. 2020; 395(10223): 470-3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
2. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Available online: 2020 March 5. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
3. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22; 395(10224): 565-74. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. Epub 2020 Jan 30.
4. Cai G, Cui X, Zhu X, Zhou J. A Hint on the COVID-19 Risk: Population Disparities in Gene Expression of Three Receptors of SARS-CoV. Available from: <https://www.preprints.org/manuscript/202002.0408/v1>. doi: 10.20944/preprints202002.0408.v1
5. Burrell LM, Harrap SB, Velkoska E, Patel SK. The ACE2 gene: its potential as a functional candidate for cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2013 Jan; 124(2): 65-76. PMID: 23013041 DOI: 10.1042/CS20120269
6. Liu C, Li Y, Guan T, Lai Y, Shen Y, Zeyaweidung A, et al. ACE2 polymorphisms associated with cardiovascular risk in Uyghurs with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*. 2018 Sep 18; 17(1): 127. doi: 10.1186/s12933-018-0771-3
7. Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*. 2014 Feb; 13(2): 397-406. doi: 10.1074/mcp.M113.035600
8. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci*. 2020 Feb 24; 12(1): 8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x
9. Cao Y, Li L, Feng Z, Wan S, Huang P, Sun X, et al. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell Discov*. 2020 Feb 24; 6: 11. doi: 10.1038/s41421-020-0147-1
10. Chen YY, Zhang P, Zhou XM, Liu D, Zhong JC, Zhang CJ, et al. Relationship between genetic variants of ACE2 gene and circulating levels of ACE2 and its metabolites. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2017 Apr; 43(2): 189-95. DOI: 10.1111/jcpt.12625
11. Fan Z, Wu G, Yue M, Ye J, Chen Y, Xu B, et al. Hypertension and hypertensive left ventricular hypertrophy are associated with ACE2 genetic polymorphism. *Life Sci*. 2019 May 15; 225: 39-45. doi: 10.1016/j.lfs.2019.03.059

12. Zhang Q, Cong M, Wang N, Li X, Zhang H, Zhang K, et al. Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Oct; 97(42): e12917. doi: 10.1097/MD.00000000000012917
13. Luo Y, Liu C, Guan T, Li Y, Lai Y, Li F, et al. Association of ACE2 genetic polymorphisms with hypertension-related target organ damages in south Xinjiang. *Hypertens Res*. 2019 May; 42(5): 681-9. doi: 10.1038/s41440-018-0166-6
14. Burrell LM, Harrap SB, Velkoska E, Patel SK. The ACE2 gene: its potential as a functional candidate for cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2013 Jan; 124(2): 65-76. PMID: 23013041. DOI: 10.1042/CS20120269
15. Wu X, Zhu B, Zou S, Shi J. The Association Between ACE2 Gene Polymorphism and the Stroke Recurrence in Chinese Population. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018 Oct; 27(10): 2770-80. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.06.001
16. Patel SK, Wai B, Ord M, Maclsaac RJ, Grant S, Velkoska E, et al. Association of ACE2 genetic variants with blood pressure, left ventricular mass, and cardiac function in Caucasians with type 2 diabetes. *Am J Hypertens*. 2012 Feb; 25(2): 216-22. doi: 10.1038/ajh.2011.188
17. Hackethal V. Type 2 Diabetes Rates Quadruple Worldwide Since 1980. 2016. Available from: <https://www.medscape.com/viewarticle/861591>
18. Moreno Juste A, Menditto E, Orlando V, Monetti VM, Gimeno Miguel A, González Rubio F, et al. Treatment Patterns of Diabetes in Italy: A Population-Based Study. *Front Pharmacol*. 2019 Aug 6; 10: 870. doi: 10.3389/fphar.2019.00870
19. IDF Europe members. Available from: <https://idf.org/our-network/regions-members/europe/members/164-ukraine.html>
20. Yin M, Augustin B, Fu Z, Yan M, Fu A, Yin P. Geographic Distributions in Hypertension Diagnosis, Measurement, Prevalence, Awareness, Treatment and Control Rates among Middle-aged and Older Adults in China. *Sci Rep*. 2016 Nov 14; 6: 37020. doi: 10.1038/srep37020
21. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Available online 2020 March 5. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
22. Chen J, Jiang Q, Xia X, Liu K, Yu Zh, TaoW, et al. Han Individual variation of the SARS-CoV2 receptor ACE2 gene expression and regulation. 2020. Available from: <https://www.preprints.org/manuscript/202003.0191/v1>
23. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Zh, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395: 1054–62. Published Online 2020 March 9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
24. Cooling L. Blood Groups in Infection and Host Susceptibility. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jul; 28(3): 801–70. doi: 10.1128/CMR.00109-14
25. Jing W, Zhao S, Liu J, Liu M. ABO blood groups and hepatitis B virus infection: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2020 Feb 2; 10(1): e034114. doi: 10.1136/bmjopen-2019-034114
26. Liu J, Zhang Q, Liu M, Wang Q, Shen H, Zhang Y. Distribution of ABO/Rh blood groups and their association with hepatitis B virus infection in 3.8 million Chinese adults: A population-based cross-sectional study. *J Viral Hepat*. 2018 Apr; 25(4): 401-11. doi: 10.1111/jvh.12829
27. Zhao J, Yang Y, Huang H-P, Li D, Gu D-F, Feng Lu X, et al. Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility. *BMJ Yale*. 2020 Mar. <https://doi.org/10.1101/2020.03.11.20031096>
28. Guan W-J, Liang W-H, Zhao Y, Liang H-R, Chen Z-Sh, Li U-M, et al. Comorbidity and its impact on 1,590 patients with COVID-19 in China: A Nationwide Analysis. *BMJ Yale*. 2020 Febr. <https://doi.org/10.1101/2020.02.25.20027664>
29. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
30. Bassetti M, Vena A, Giacobbe DR. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: challenges for fighting the storm. *Eur J Clin Invest*. 2020; 50: e13209. doi: 10.1111/eci.13209
31. Woo PC, Lau SK, Wong BH, Tsoi HW, Fung AM, Kao RY, et al. Differential sensitivities of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus spike polypeptide enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and SARS coronavirus nucleocapsid protein ELISA for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2005 Jul; 43(7): 3054-8. doi: 10.1128/JCM.43.7.3054-3058.2005
32. Woo PCY, Lau SKP, Wong BHL, Tsoi HW, Fung AMY, Chan KH, et al. Detection of specific antibodies to SARS coronavirus nucleocapsid protein for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 2306-9.
33. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol*. 2016; 24: 490-502. DOI: 10.1016/j.tim.2016.03.003
34. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Kenrie PY Hui, Pavithra K, Yingzhi L, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia *Clin Chem*. 2020. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa029
35. To KK, Tsang OT, Chik-Yan Yip C, Chan KH, Wu TC, Chan JMC, et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis*. 2020 Feb 12. pii: ciaa149. doi: 10.1093/cid/ciaa149
36. China Daily Wuhan reports first doctor death from coronavirus. 2020. Available from: <https://www.chinadaily.com.cn/a/202001/25/WS5e2bb1b6a31012821727333a.html>. Accessed 1 February 2020
37. Groneberg DA, Hilgenfeld R, Zabel P. Molecular mechanisms of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Respir Res*. 2005; 6: 8. doi: 10.1186/1465-9921-6-8

38. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020 Mar; 30(3): 269-71. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0
39. Zumla A, Chan JF, Azhar EI, Hui DS, Yuen KY. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 May; 15(5): 327-47. doi: 10.1038/nrd.2015.37
40. De Clercq E. New nucleoside analogues for the treatment of hemorrhagic fever virus infections. *Chem Asian J*. 2019; 14: 3962-8. doi: 10.1002/asia.201900841
41. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020; 92: 418-23. doi: 10.1002/jmv.25681
42. Chen L, Gui C, Luo X, Yang Q, Günther S, Scandella E, et al. Cinanserin is an inhibitor of the 3C-like proteinase of severe acute respiratory syndrome coronavirus and strongly reduces virus replication in vitro. *J Virol*. 2005 Jun; 79(11): 7095-103. doi: 10.1128/JVI.79.11.7095-7103.2005
43. Jo S, Kim S, Shin DH, Kim MS. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J Enzym Inhib Med Chem*. 2020 Dec; 35(1): 145-51. doi: 10.1080/14756366.2019.1690480
44. Park JY, Jeong HJ, Kim JH, Kim YM, Park SJ, Kim D, et al. Diarylheptanoids from *Alnus japonica* inhibit papain-like protease of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Biol Pharm Bull*. 2012; 35(11): 2036-42. doi: 10.1248/bpb.b12-00623
45. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003 Nov 27; 426(6965): 450-4. doi: 10.1038/nature02145
46. Leng Z, Zhu R, Hou W, Feng Y, Yang Y, Han Q, et al. Transplantation of ACE2⁺ Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia. *Aging and Disease*. 2020; 0(0): 216-28. <https://doi.org/10.14336/AD.2020.0228>
47. Metcalfe SM. Mesenchymal stem cells and management of COVID-19 pneumonia. *Medicine in Drug Discovery*. Available online 19 March 2020. doi: 10.1016/j.medidd.2020.100019

УДК 575:578.834.11–577.2.01

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ДИФФЕРЕНЦІАЛЬНОЇ СПРИЙНЯТЛИВОСТІ ДО 2019-nCoV/ SARS-CoV-2 У ЛЮДИНИ

Федота О. М., Скрипкіна І. Я.

Резюме. Генетичний поліморфізм представників різних етнічних, вікових груп і різної статі визначає відмінності за ступенем сприйнятливості до SARS-CoV - найвищі показники ступеня тяжкості і смертності CoviD-19 відзначені при наявності супутніх захворювань, у пацієнтів чоловічої статі, у пацієнтів похилого віку. У людини описана можливість рецепції SARS-CoV-2 ACE2, експресія якого відзначена в тканинах ряду органів. Доведено обогаченність рецептором епітеліальних клітин язика, що може пояснювати основний механізм високого ризику сприйнятливості до 2019-nCoV ротової порожнини. Плейотропний ефект гена ACE2 виражається в його здатності визначати кілька ознак - виступати в якості рецептора коронавірусів і виконувати функції ферменту ренін-ангіотензинової системи. Поліморфізм гена ACE2 визначає можливості взаємодії рецептора і віруса, характер його експресії, схильність до розвитку кардіо-метаболічного синдрому. Відмінності в рівні експресії ACE2 у осіб різної статі, віку, етносу можуть бути причиною різної схильності до інфікування SARS-CoV2 і ступеня тяжкості CoviD-19 серед різних груп населення. Представлені аргументи на користь захисної ролі високої експресії ACE2 проти летального результату при SARS-CoV2-інфекції - визначено зворотний зв'язок між летальністю при CoviD-19 і рівнем експресії ACE2. Пацієнти з групою крові А мають ризик в 1,2 рази вищий, ніж пацієнти з іншими групами крові, більш тяжкого перебігу захворювання, а пацієнти з групою крові О мають ризик, в 0,67 разів менший щодо розвитку тяжкого перебігу CoviD-19.

Актуальність застосування молекулярно-генетичних тестів в діагностиці вірусної інфекції обумовлена їх високою чутливістю, можливістю роботи з різними біологічними зразками, швидким отриманням результату. Поряд з традиційними методами противірусної терапії, перспективним напрямом є застосування стовбурових клітин різних типів в лікуванні ускладнень, дегенеративних процесів дихальної системи, CoviD-19. Вивчення генетичних особливостей власного населення, розвиток системи молекулярного тестування генетичних та інфекційних захворювань є пріоритетними напрямками підвищення рівня генетичної безпеки населення кожної країни.

Ключові слова: SARS-CoV, CoviD-19, генетичний поліморфізм, експресія ACE2, групи ризику.

UDC 575:578.834.11–577.2.01

Analysis of Genetic Features of Differential Susceptibility to 2019-nCoV / SARS-CoV-2 in Human Beings

Fedota O. M., Skrypkina I. Ya.

Abstract. Genetic polymorphism of human beings from different ethnic, age groups and different sex determines variability in the degree of susceptibility to SARS-CoV and states that the highest indicators of severity and mortality of COVID-19 were observed in men of older age with comorbid conditions. The possibility of receiving SARS-CoV-2 with ACE2 has been described. Its expression is noted in the tissues of several organs. The enrichment of the tongue epithelial cells by receptor has been proved, which explains the main mechanism of a high risk of susceptibility to the 2019-nCoV oral cavity. The pleiotropic effect of the ACE2 gene is manifested in its ability to detect several traits: to act as a coronavirus receptor and to act as a renin-angiotensin systems enzyme. The ACE2 gene polymorphism determines the possibilities of interaction between the receptor and the virus, the nature of its expression, and its predisposition to the development of cardiometabolic syndrome. Differences in the level of ACE2 expression in people of different sex, age, ethnicity could be the reason for different susceptibility to SARS-CoV2 infection and the severity of COVID-19 among different population groups. Arguments are presented in favor of the protective role of ACE2 high expression against death in SARS-CoV2 infection because an inverse relationship was found between mortality in Covid-19 and ACE2 expression level. People with blood group A have 1.2 times higher risk to have severe degree of clinical manifestations than people with all other blood groups, and people with blood group O have a risk of 0.67 times less than the others.

The urgency of using molecular genetic tests in the diagnosis of viral infection is explained by their high sensitivity, the ability to work with different biological samples, and getting quick results. Along with the traditional methods of antiviral therapy, the promising direction is to use stem cells of different types in the treatment of complications, degenerative processes of the respiratory system, COVID-19.

The study of the genetic characteristics of their own population, the development of a molecular testing system for genetic and infectious diseases are priority areas for improving the genetic safety of each population.

Keywords: SARS-CoV, Covid-19, genetic polymorphism, ACE2 expression, risk groups.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 30.03.2020 р.

Рекомендовано до друку *on-line* рішенням редакційної колегії після рецензування