

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624810>

Поиск генных вариантов, влияющих на тяжесть течения COVID-19, на основе результатов секвенирования клинического экзозома

С.В. Апалько^{1, 2}, А.В. Ностаева¹, В.С. Шиманский^{1, 2}, Н.Н. Сушенцева¹, О.С. Попов^{1, 2},
А.Ю. Анисенкова^{1, 2}, С.В. Мосенко^{1, 2}, О.С. Глотов^{3, 4}, А.М. Сарана², С.Г. Щербак^{1, 2}

¹ Городская больница № 40 Курортного района, Сестрорецк, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

³ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Генотип человека является одним из факторов, определяющих тяжесть течения COVID-19. Ранее в широкомасштабном полногеномном исследовании ассоциаций COVID-19 HG project (COVID-19 Host Genetics Initiative, 2021) рассматривалась связь генетических вариантов, включающих множество локусов, с тяжестью течения данного заболевания. Ожидается, что генетические варианты, оказывающие наибольшее влияние на тяжесть течения COVID-19, будут иметь низкую частоту в популяции. Таким образом, изучение редких вариантов может дать дополнительные сведения о патогенезе заболевания и, следовательно, помочь в разработке способов его профилактики и лечения.

Цель исследования — поиск генов, обогащённых редкими генетическими вариантами, связанными с тяжестью течения COVID-19, на данных российской популяции при помощи репликационного анализа.

Методы. Проведено секвенирование клинического экзозома российской когорты пациентов на базе СПб ГБУЗ «Городская больница № 40» и СПбГУ. В исследовании использовали биоматериал пациентов, госпитализированных в СПб ГБУЗ «Городская больница № 40» с диагнозом COVID-19, и здоровых людей, вошедших в группу популяционного контроля. Тяжесть течения COVID-19 определяли по результатам компьютерной томографии лёгких. Список генов для последующей репликации был сформирован в результате анализа литературы. Репликационный анализ генов, ассоциированных с тяжестью течения COVID-19, был выполнен с помощью методов нагрузочного тестирования (burden test).

Результаты. Проведено секвенирование 701 клинического экзозома: 263 пациентов с тяжёлым течением COVID-19 и 438 здоровых доноров. В результате анализа литературы было найдено 18 генов, ассоциированных с тяжёлым течением COVID-19, которые вошли в репликационный анализ. Он не выявил генов, ассоциация которых с тяжёлым течением COVID-19 подтвердилась бы на исследуемой когорте.

Заключение. Несмотря на то, что генов, для которых была бы найдена значимая ассоциация между обогащением функциональными вариантами и тяжестью течения COVID-19, не обнаружено, рассчитанное направление корреляционной связи совпадает с данными ранее проведённых исследований. Расширение исследуемой когорты приведёт к усилению мощности тестов и, возможно, позволит обнаружить дополнительные редкие варианты, влияющие на тяжесть течения COVID-19.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция; COVID-19; секвенирование; экзозом; мутации; гены.

Как цитировать:

Апалько С.В., Ностаева А.В., Шиманский В.С., Сушенцева Н.Н., Попов О.С., Анисенкова А.Ю., Мосенко С.В., Глотов О.С., Сарана А.М., Щербак С.Г. Поиск генных вариантов, влияющих на тяжесть течения COVID-19, на основе результатов секвенирования клинического экзозома // Гены и клетки. 2024. Т. 19, № 2. С. 245–254. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624810>

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624810>

Exome-wide association study for replication of rare variants affecting the severity of COVID-19 in the Russian population

Svetlana V. Apalko^{1,2}, Arina V. Nostaeva¹, Valentin S. Shimansky^{1,2}, Natalya N. Sushentseva¹, Oleg S. Popov^{1,2}, Anna Yu. Anisenkova^{1,2}, Sergey V. Mosenko^{1,2}, Oleg S. Glotov^{3,4}, Andrey M. Sarana², Sergey G. Shcherbak^{1,2}

¹ City Hospital No. 40 of Kurortny District, Sestroretsk, Russia;

² St Petersburg University, Saint Petersburg, Russia;

³ D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia;

⁴ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Human genotype is a factor that determines the severity of COVID-19. Previously, a large-scale whole-genome association study of the COVID-19 Host Genetics Initiative (2021) investigated the association of genetic variants at multiple loci with COVID-19 severity. The genetic variants that have the greatest effect on COVID-19 severity are expected to have a low frequency in the population. Therefore, the study of rare variants may provide additional insights into the disease pathogenesis and thus help in the development of prevention and treatment options.

AIM: To search for genes enriched for rare genetic variants associated with COVID-19 severity in the Russian population by replication analysis.

METHODS: The clinical exome of a Russian cohort of patients was sequenced based on the St. Petersburg State Budgetary Institution "City Hospital No. 40" and St Petersburg University. The study used biomaterial from patients hospitalized at City Hospital No. 40 diagnosed with COVID-19 and healthy individuals (population control group). The severity of the course of COVID-19 was determined according to the results of lung computed tomography. The list of genes for subsequent replication was generated by a literature review. Burden test methods were used for the replication analysis of genes associated with COVID-19 severity.

RESULTS: In total, 701 clinical exomes were sequenced from 263 individuals with severe COVID-19 and 438 healthy individuals. In the literature review, 18 genes associated with severe COVID-19 were included in the replication analysis. The replication analysis did not identify any genes whose association with severe COVID-19 was confirmed in the study cohort.

CONCLUSION: The replication analysis did not identify any genes that showed a significant association between the functional variant enrichment and COVID-19 severity. However, the direction of the correlation was consistent with the findings of previous studies. Expanding the study cohort would increase the power of the tests and allow us to detect additional rare variants that influence the severity of COVID-19 progression.

Keywords: coronavirus infection; COVID-19; sequencing; exome; mutations; genes.

To cite this article:

Apalko SV, Nostaeva AV, Shimansky VS, Sushentseva NN, Popov OS, Anisenkova AY, Mosenko SV, Glotov OS, Sarana AM, Shcherbak SG. Exome-wide association study for replication of rare variants affecting the severity of COVID-19 in the Russian population. *Genes & cells*. 2024;19(2):245–254. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc624810>

ВВЕДЕНИЕ

COVID-19 представляет собой инфекционное заболевание, вызванное коронавирусом тяжёлого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). У большинства инфицированных наблюдаются лёгкое или умеренное течение заболевания. Однако у некоторых пациентов COVID-19 протекает в тяжёлой форме, требующей оказания квалифицированной медицинской помощи в условиях стационара.

Исследования показали, что на тяжесть течения COVID-19 и вероятность летального исхода помимо штамма вируса в значительной мере влияют такие факторы, как возраст, социально-экономический статус и наличие сопутствующих заболеваний [1, 2]. Однако наблюдаемая вариабельность протекания COVID-19 не может быть объяснена только этими факторами. Восприимчивость к вирусу, определяемая как вероятность развития COVID-19 после заражения SARS-CoV-2, также широко вариабельна [3, 4]. Тяжесть фенотипических проявлений изменяется от бессимптомного течения до острого респираторного дистресс-синдрома и летальных исходов [3]. Уже в начале пандемии было отмечено, что тяжёлая форма заболевания может развиваться у пациентов младше шестидесяти лет без коморбидных состояний. Подобные случаи иногда носят семейный характер [5], что позволяет предположить роль генотипа человека как фактора риска.

Крупномасштабные исследования генетических ассоциаций, охватывающие как редкие, так и распространённые генетические варианты, используют различные схемы для выявления геномных регионов, ассоциированных с COVID-19. Предыдущие работы по изучению генетики носителей COVID-19 с помощью полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) выявили ряд генетических вариантов, статистически значимо ассоциированных либо с восприимчивостью к COVID-19, либо с тяжестью его течения [6–10].

Важно упомянуть, что надёжность и статистическая мощность GWAS снижаются по мере уменьшения частоты встречаемости полиморфизмов [11]. Определение редких генетических вариаций может быть улучшено с помощью технологии секвенирования [12]. Предполагается, что редкие варианты могут иметь более значительные эффекты и поэтому способны дать уникальное представление о генетической предрасположенности к различным осложнениям COVID-19. Из-за генетической неоднородности населения земного шара важным этапом изучения генетических факторов, связанных с протеканием заболевания COVID-19, является репликация ранее найденных ассоциаций в широком спектре различных популяций.

Цель исследования — поиск генов, обогащённых редкими генетическими вариантами, связанными с тяжестью течения COVID-19, на данных российской популяции при помощи репликационного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Секвенирование

Выделение ДНК из цельной крови выполнено методом фенольной экстракции. Концентрацию ДНК измеряли с помощью набора реагентов QuantiFluor dsDNA System (Promega, США) на приборе Quantus (Promega). Подготовка библиотек проведена с использованием набора зондов клинического экзостама KAPA HyperChoice Max 12Mb и набора для приготовления библиотек KAPA HyperPrep Kit (Roche, Швейцария). Секвенирование методом парно-концевых прочтений (PE 150) выполнено на секвенаторе нового поколения HiSeq 4000 (Illumina, США) со средним покрытием целевых регионов 73x.

Идентификация вариантов и аннотация

После секвенирования полученные прочтения были выровнены по референсному геному hg38 с помощью программы BWA-MEM2. Для коррекции базового качества, выравнивания инсерций и делеций, удаления дубликатов, идентификации и генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP), инсерций и делеций во всех образцах в соответствии с рекомендациями GATK Best Practices был использован инструмент Genome Analysis Toolkit (GATK v. 4.2.4.1). Обработку файлов (*.vcf) проводили с помощью программ Tabix и BCFtools. После идентификации вариантов выполнена их аннотация на предмет функционального влияния с помощью Variant Effect Predictor.

Отбор генов

Опубликованные результаты оригинальных исследований были найдены в базах данных PubMed и Google Scholar по поисковым запросам, включающим различные комбинации таких ключевых слов, как “genetics”, “genomics” и “SARS-CoV-2”, “COVID-19”. Кроме того, проанализированы отдельные обзорные статьи [13, 14]. Перечень исследуемых генов был ограничен в связи с отсутствием некоторых из них в используемой экзостомной панели.

Исследуемая популяция и фенотипы исходов COVID-19

Исследование проведено на базе Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 40 Курортного района» и Санкт-Петербургского государственного университета. Участниками являются пациенты, госпитализированные с тяжёлой формой COVID-19, и здоровые люди, входящие в группу популяционного контроля. Использовали биоматериал из коллекции биобанка СПб ГБУЗ «Городская больница № 40».

Этическая экспертиза

Все пациенты подписали информированное добровольное согласие. Исследование одобрено экспертным

советом по этике СПб ГБУЗ «Городская больница № 40».

Нагрузочный генный тест

Нагрузочное тестирование проводили путём объединения генетических вариантов в два различных набора, называемых масками. Первая маска (M1) включала варианты, приводящие к потере функции, и обозначенные как HIGH IMPACT в базе данных Ensembl [15], вторая маска (M2) — все варианты из первой маски, а также варианты MODERATE IMPACT. После того как варианты были объединены по генам, на которых они расположены, для каждого участника и для каждой маски генам присваивали балл 0 — при отсутствии вариантов в этой маске; балл 1 — если у участника был один или несколько гетерозиготных вариантов в этой маске; и балл 2 — если у участника был один или несколько гомозиготных вариантов в этой маске. Векторы этих баллов применяли в качестве предикторов в моделях логистической регрессии, где тяжесть течения COVID-19 — зависимая величина. В модели логистической регрессии также были использованы 10 главных генетических компонент, полученных из распространённых генетических вариантов с частотой встречаемости минорного аллеля (minor allele frequency, MAF) >1%. Статистическая обработка выполнена с помощью Python 3 [16] с использованием библиотеки firthlogist, корректировка редких или несбалансированных событий проведена методом пенализации правдоподобия Фирта, что позволило получить несмещённые оценки эффекта. Анализ проводили для вариантов с MAF менее 1%, определённой на основе gnomAD [17]. Варианты, для которых доля пропущенных значений превышала 10%, были удалены из анализа. Уровень значимости корректировали с помощью поправки Бонферрони на множественную проверку гипотез.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуемая популяция

Всего в исследование включен биоматериал 701 испытуемого, среди которых 318 женщин (45%), средний возраст которых составил 62 года (±14 лет); 383 мужчины (55%), средний возраст которых составил 58 лет (±14 лет). Группа участников исследования категоризирована по полу, тяжести течения заболевания и исходу (табл. 1). Используются следующие клинические и клинико-рентгенологические критерии:

- лёгкое течение COVID-19: температура тела ниже 38 °С, слабость, боль в горле, кашель, отсутствие показателей, свойственных для умеренного и тяжёлого течения;
- умеренное течение COVID-19: наличие лихорадки, температура тела выше 38 °С, частота дыхания более 22 в минуту, одышка, пневмония, периферическая капиллярная оксигенация (SpO₂) <95%;

Таблица 1. Характеристика когорты пациентов, *n*
Table 1. Patient cohort characteristics (*n*)

Тяжесть течения заболевания и его исход	Мужчины	Женщины	Всего
Тяжесть течения:			
не болел	32	29	61
лёгкая	24	19	43
средняя	171	163	334
тяжёлая	154	104	258
крайне тяжёлая	2	3	5
Исход заболевания:			
не болел	32	29	61
выздоровление	287	246	533
смертельный	64	43	107

- тяжёлое течение COVID-19: частота дыхания более 30 в минуту; SpO₂ ≤93%; индекс оксигенации (PaO₂/FiO₂) ≤300 мм рт.ст.; прогрессирование изменений в лёгких, характерных для COVID-19, пневмонии; а также появление признаков других патологических состояний; изменение уровня сознания; нестабильная гемодинамика;
- крайне тяжёлое течение COVID-19: признаки острого респираторного дистресс-синдрома, наличие септического шока и множественная органная недостаточность.

Отобранные гены

Основное внимание было сосредоточено на ранее выявленных ассоциациях из наиболее надёжных и интерпретируемых исследований. В результате обзора литературы определён список генов, потенциально подходящих для последующей репликации (табл. 2 [6–10, 18–25]).

Результаты анализа нагрузочных тестов

Для учёта ожидаемо малого количества редких детерминантных вариантов с большим эффектом использовали нагрузочное тестирование, позволяющее увеличить статистическую мощность для проверки ассоциаций между редкими вариантами и различными проявлениями заболевания [26]. При таком тестировании каждый вариант объединяется в более крупные наборы вариантов и далее проверяется связь между группами вариантов и фенотипом (зависимой величиной). При использовании порога значимости *p*-value 0,05/(6+18)=0,002 не обнаружено генов, ассоциированных с тяжестью течения COVID-19 в исследуемой когорте (табл. 3). При этом из результатов выделяется ген *TLR3*, уровень значимости для которого (*p*=0,09 по первой маске) был заметно ниже по сравнению с остальными генами. Данный ген демонстрирует обогащение вредными вариантами в группе случаев (отношение шансов (ОШ) — 13,6). Среди исследуемых генов дополнительно можно выделить еще два во второй маске: *MUC5B* и *OAS1*, коэффициент которых имел уровень значимости, наиболее близкий к пороговому, среди всех генов во второй маске (с *p*=0,14 и *p*=0,16 соответственно).

Таблица 2. Список генов, отобранных для репликационного анализа
Table 2. List of genes selected for replication analysis

Название гена	Хромосома	Литература
<i>TLR3</i>	4	Zhang Q., et al., Science, 2020 [18]
<i>UNC93B1</i>	11	Zhang Q., et al., Science, 2020 [18]
<i>TICAM1</i>	19	Zhang Q., et al., Science, 2020 [18]
<i>TBK1</i>	12	Zhang Q., et al., Science, 2020 [18]
<i>AIRE</i>	21	Zhang Q., et al., Nature, 2022 [19] Bastard P., et al., J Exp Med, 2021 [20]
<i>RAG1</i>	11	Zhang Q., et al., Nature, 2022 [19] Bastard P., et al., J Exp Med, 2021 [20]
<i>RAG2</i>	11	Zhang Q., et al., Nature, 2022 [19] Bastard P., et al., J Exp Med, 2021 [20]
<i>HLA-DQB1</i>	6	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Kousathanas et al., Nature, 2022 [10] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9]
<i>HLA-DQB2</i>	6	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Kousathanas A., et al., Nature, 2022 [10] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9]
<i>MUC1</i>	1	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Kousathanas A., et al., Nature, 2022 [10]
<i>SLC6A20</i>	3	Kousathanas A., et al., Nature, 2022 [10] Shelton J.F., et al., Nat Genet, 2021 [21] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Carracedo Á., et al., medRxiv, 2021 [22]
<i>LZTFL1</i>	3	Shelton J.F., et al., Nat Genet, 2021 [21] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Roberts G.H.L., et al., medRxiv, 2020 [23] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9] The Severe Covid-19 GWAS Group, N Engl J Med., 2020 [8] Carracedo Á., et al., medRxiv, 2021 [22]
<i>ABO</i>	9	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Shelton J.F., et al., Nat Genet, 2021 [21] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Roberts G.H.L., et al., medRxiv, 2020 [23] The Severe Covid-19 GWAS Group, N Engl J Med, 2020 [8] Horowitz J.E., et al., Nat Genet, 2022 [24]
<i>SFTPD</i>	10	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] The Severe Covid-19 GWAS Group, N Engl J Med, 2020 [8]
<i>MUC5B</i>	11	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6]
<i>OAS1</i>	12	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9] Huffman J.E., et al., Nat Genet, 2022 [25]
<i>TYK2</i>	19	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Kousathanas A., et al., Nature, 2022 [10] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9]
<i>IFNAR2</i>	21	COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2022 [6] Kousathanas A., et al., Nature, 2022 [10] COVID-19 Host Genetics Initiative, Nature, 2021 [7] Pairo-Castineira E., et al., Nature, 2021 [9] Horowitz J.E., et al., Nat Genet, 2022 [24] Carracedo Á., et al., medRxiv, 2021 [22] Zhang Q., et al., Science, 2020 [18]

Таблица 3. Результаты нагрузочного тестирования
Table 3. Burden testing results

Ген	Маска	Коэффициент	Стандартная ошибка	<i>p</i>	ОШ	95% ДИ для ОШ
<i>TLR3</i>	M1	2,61	2,35	0,09	13,6	0,7–2072,6
<i>TBK1</i>	M1	–0,24	0,41	0,55	0,8	0,3–1,7
<i>AIRE</i>	M1	0,56	1,43	0,63	1,8	0,1–22
<i>MUC1</i>	M1	–1,29	2,34	0,41	0,3	0–5,6
<i>SLC6A20</i>	M1	–0,26	1,20	0,80	0,8	0,1–5,9
<i>TYK2</i>	M1	0,63	1,25	0,57	1,9	0,2–16,1
<i>TLR3</i>	M2	0,53	0,70	0,43	1,7	0,4–6,3
<i>UNC93B1</i>	M2	0,50	1,42	0,67	1,6	0,1–20,6
<i>TICAM1</i>	M2	0,47	0,65	0,45	1,6	0,5–5,6
<i>TBK1</i>	M2	–0,25	0,31	0,40	0,8	0,4–1,4
<i>AIRE</i>	M2	–0,31	0,39	0,41	0,7	0,3–1,5
<i>RAG1</i>	M2	0,12	0,33	0,72	1,1	0,6–2,1
<i>RAG2</i>	M2	–0,25	0,42	0,54	0,8	0,3–1,7
<i>HLA-DQB1</i>	M2	–0,04	0,13	0,76	1,0	0,7–1,2
<i>HLA-DQB2</i>	M2	–0,12	0,18	0,49	0,9	0,6–1,2
<i>MUC1</i>	M2	–0,07	0,33	0,83	0,9	0,5–1,7
<i>SLC6A20</i>	M2	–0,23	0,38	0,54	0,8	0,4–1,6
<i>LZTFL1</i>	M2	–0,09	1,11	0,93	0,9	0,1–5,8
<i>ABO</i>	M2	–0,13	0,14	0,34	0,9	0,7–1,2
<i>SFTPD</i>	M2	0,43	0,83	0,58	1,5	0,3–7,3
<i>MUC5B</i>	M2	–0,28	0,19	0,14	0,8	0,5–1,1
<i>OAS1</i>	M2	0,17	0,13	0,16	1,2	0,9–1,5
<i>TYK2</i>	M2	–0,09	0,31	0,77	0,9	0,5–1,7
<i>IFNAR2</i>	M2	0,46	0,59	0,41	1,6	0,5–5,0

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты демонстрируют отсутствие значимой связи между тяжестью течения COVID-19 и обогащением редкими генетическими вариантами в отобранных генах, что согласуется с некоторыми результатами из исследования G. Butler-Laporte с соавт. [27]. В упомянутом исследовании проведён аналогичный анализ, где на выборке из 5085 случаев тяжёлого заболевания и 571 737 контролей тестировали в общей сложности 18 883 белок-кодирующих гена. С использованием порога значимости с поправкой на множественное тестирование обнаружено только 3 гена, ассоциированных хотя бы с одним из фенотипических проявлений COVID-19.

Несмотря на то, что нами не найдено значимых ассоциаций, из результатов выделяется ген *TLR3*, который показал наиболее высокий уровень значимости по сравнению с остальными. При этом обогащение патогенными вариантами наблюдалось именно в группе случаев. Продукт этого гена участвует как во врождённом, так и в адаптивном иммунном ответе за счёт выработки

интерферонов I и III типов. Пациенты с мутациями *TLR3* и дефицитом его продукта высоко восприимчивы к детскому герпесвирусному энцефалиту, а также имеют повышенный риск развития острого респираторного дистресс-синдрома при гриппе A [28, 29].

Для остальных генов исследования взаимосвязи между обогащением мутациями и тяжестью течения COVID-19 продемонстрировали различные направления корреляции. Например, для гена *MUC1* обогащение патогенными вариантами по первой маске было смещено в сторону контролей (ОШ=0,3; 95% ДИ: 0–5,6). Муцины выполняют защитную функцию, предотвращая связывание SARS-CoV-2 с клеточной поверхностью. Однако появляются доказательства, что сверхэкспрессия различных муцинов коррелирует с тяжёлым течением COVID-19. Вариант гена rs41264915 *MUC1*, который приводит к повышенной экспрессии, был одним из немногих значимых SNP, связанных с тяжёлым течением COVID-19, в крупномасштабном GWAS [10]. Это согласуется также с данными другого исследования, которое показало, что увеличение экспрессии мРНК *MUC1* связано с критической тяжестью заболевания [30].

Аналогичные закономерности выявлены для генов *LZTFL1* (ОШ=0,9; 95% ДИ: 0,1–5,8) и *SLC6A20* (ОШ=0,8; 95% ДИ: 0,1–5,9), что согласуется с последними исследованиями, которые предлагают ген *LZTFL1* в качестве кандидата на ассоциацию с тяжёлым течением COVID-19 [31]. Авторы показали, что генетический вариант rs17713054 из ранних GWAS при дыхательной недостаточности, обусловленной COVID-19, является вариантом энхансерного мотива [8, 9], который приводит к увеличению экспрессии *LZTFL1* и *SLC6A20* [31]. При этом стоит отметить, что из двух генов только *LZTFL1* экспрессируется в эпителиальных клетках лёгких. В контексте изучения патогенеза COVID-19 эпителий лёгких представляет интерес для понимания механизмов заражения SARS-CoV-2. При инфицировании его клетки демонстрируют признаки активации механизма эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [31]. Потенциально ЭМП, являющийся разновидностью иммунного ответа, препятствует распространению инфекции путём снижения экспрессии рецепторов для «входа» SARS-CoV-2 в дыхательные пути и позволяет в конечном итоге восстановить поражённые ткани [32]. Известно, что повышенная экспрессия *LZTFL1* снижает интенсивность ЭМП, и это потенциально объясняет ассоциацию энхансерного варианта с менее благоприятным исходом [31].

Обогащение патогенными вариантами, смещённое в сторону случаев, наблюдалось для гена *TYK2*, который участвует в регуляции цитокинового ответа и поэтому является потенциальной мишенью для разработки лекарственных препаратов. Сообщалось, что у пациентов с COVID-19 экспрессия *TYK2* снижена по сравнению с контролем [33].

Ограничением данного исследования является относительно небольшой размер выборки для анализа редких вариантов. Учитывая согласующееся с предыдущими исследованиями направление корреляции, можно предположить, что результаты могут быть реплицированы с достаточной значимостью на выборках большего размера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено секвенирование клинического экзоста 701 пациента. Проанализированы научные публикации, в результате чего были отобраны 18 генов, ассоциированных с тяжестью течения COVID-19. Последующий репликационный анализ, выполненный на исследуемой выборке, не обнаружил генов, значимо обогащённых функциональными генетическими вариантами в группе случаев или в группе контроля. При этом направление корреляции совпадает с выводами из ранее полученных исследований. Расширение исследуемой когорты приведёт к усилению мощности тестов и, возможно, позволит обнаружить больше значимых взаимосвязей между обогащением мутациями генов, описанных в литературе, и тяжестью течения COVID-19.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках проекта Санкт-Петербургского государственного университета ID 94029859 и при взаимодействии с базой Ресурсного центра «Центр Биобанк».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. С.В. Апалько — курирование исследования, сбор и анализ литературных источников, редактирование статьи; А.В. Ностаева — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, проведение статистического анализа, подготовка и написание текста статьи; В.С. Шиманский — биоинформатическая обработка данных; Н.Н. Сушенцева — курирование исследования, сбор и анализ литературных источников, редактирование статьи; О.С. Попов — биоинформатическая обработка данных, редактирование статьи; А.Ю. Анисенкова — сбор и обработка материала; С.В. Мосенко — сбор и обработка материала; О.С. Готов — концепция и дизайн исследования, редактирование статьи; А.М. Сарана — концепция и дизайн исследования; С.Г. Щербак — концепция и дизайн исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This work was supported by Saint Petersburg State University, project ID: 94029859. The investigation was carried out in cooperation with the Core facility center "Biobank".

Competing interest. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. S.V. Apalko — curation, collection and analysis of literary sources, editing the article; A.V. Nostaeva — literature review, collection and analysis of literary sources, statistical analysis, preparation and writing of the article; V.S. Shimansky — bioinformatics data processing; N.N. Sushentseva — supervision, collection and analysis of literary sources, editing the article; O.S. Popov — bioinformatics data processing, editing the article; A.Yu. Anisenkova — collection and processing of material; S.V. Mosenko — collection and processing of material; O.S. Glotov — study concept and design, editing the article; A.M. Sarana — study concept and design; S.G. Shcherbak — concept and design of the study. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. COVID-19 National Preparedness Collaborators. Pandemic preparedness and COVID-19: an exploratory analysis of infection and fatality rates, and contextual factors associated with preparedness in 177 countries, from Jan 1, 2020, to Sept 30, 2021 // *Lancet*. 2022. Vol. 399, N 10334. P. 1489–1512. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00172-6
2. Biswas M., Rahaman S., Biswas T.K., et al. Association of sex, age, and comorbidities with mortality in covid-19 patients: a systematic review and meta-analysis // *Intervirology*. 2020. doi: 10.1159/000512592
3. Wang Y., Wang Y., Chen Y., Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures // *J Med Virol*. 2020. Vol. 92, N 6. P. 568–576. doi: 10.1002/jmv.25748
4. Fricke-Galindo I., Falfán-Valencia R. Genetics insight for COVID-19 susceptibility and severity: a review // *Front Immunol*. 2021. Vol. 12. P. 622176. doi: 10.3389/fimmu.2021.622176
5. Yousefzadegan S., Rezaei N. Case report: death due to COVID-19 in three brothers // *Am J Trop Med Hyg*. 2020. Vol. 102, N 6. P. 1203–1204. doi: 10.4269/ajtmh.20-0240
6. COVID-19 Host Genetics Initiative. A first update on mapping the human genetic architecture of COVID-19 // *Nature*. 2022. Vol. 608, N 7921. P. E1–E10. doi: 10.1038/s41586-022-04826-7
7. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19 // *Nature*. 2021. Vol. 600, N 7889. P. 472–477. doi: 10.1038/s41586-021-0376-x
8. The Severe Covid-19 GWAS Group; Ellinghaus D., Degenhardt F., et al. Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure // *N Engl J Med*. 2020. Vol. 383, N 16. P. 1522–1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283
9. The GenOMICC Investigators et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19 // *Nature*. 2021. Vol. 591, N 7848. P. 92–98. doi: 10.1038/s41586-020-03065-y
10. Kousathanas A., Pairo-Castineira E., Rawlik K., et al. Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19 // *Nature*. 2022. Vol. 607, N 7917. P. 97–103. doi: 10.1038/s41586-022-04576-6
11. Tam V., Patel N., Turcotte M., et al. Benefits and limitations of genome-wide association studies // *Nat Rev Genet*. 2019. Vol. 20, N 8. P. 467–484. doi: 10.1038/s41576-019-0127-1
12. Taliun D., Harris D.N., Kessler M.D., et al. Sequencing of 53,831 diverse genomes from the NHLBI TOPMed Program // *Nature*. 2021. Vol. 590, N 7845. P. 290–299. doi: 10.1038/s41586-021-03205-y
13. Niemi M.E.K., Daly M.J., Ganna A. The human genetic epidemiology of COVID-19 // *Nat Rev Genet*. 2022. Vol. 23, N 9. P. 533–546. doi: 10.1038/s41576-022-00478-5
14. Redin C., Thorball C.W., Fellay J. Host genomics of SARS-CoV-2 infection // *Eur J Hum Genet*. 2022. Vol. 30, N 8. P. 908–914. doi: 10.1038/s41431-022-01136-4
15. Howe K.L., Achuthan P., Allen J., et al. Ensembl 2021 // *Nucleic Acids Res*. 2021. Vol. 49, N D1. P. D884–D891. doi: 10.1093/nar/gkaa942
16. Beazley D.M. Python essential reference. 3rd ed. Developer's library, 2006. 625 p.
17. Karczewski K.J., Francioli L.C., Tiao G., et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans // *Nature*. 2020. Vol. 581, N 7809. P. 434–443. Corrected and republished from: *Nature*. Vol. 590, N 7846. P. E53. doi: 10.1038/s41586-020-2308-7
18. Zhang Q., Bastard P., Liu Z., et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19 // *Science*. 2020. Vol. 370, N 6515. P. eabd4570. doi: 10.1126/science.abd4570
19. Zhang Q., Bastard P., COVID Human Genetic Effort; et al. Human genetic and immunological determinants of critical COVID-19 pneumonia // *Nature*. 2022. Vol. 603, N 7902. P. 587–598. doi: 10.1038/s41586-022-04447-0
20. Bastard P., Orlova E., Sozaeva L., et al. Preexisting autoantibodies to type I IFNs underlie critical COVID-19 pneumonia in patients with APS-1 // *J Exp Med*. 2021. Vol. 218, N 7. P. e20210554. doi: 10.1084/jem.20210554
21. Shelton J.F., Shastri A.J., Ye C., et al. Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity // *Nat Genet*. 2021. Vol. 53, N 6. P. 801–808. doi: 10.1038/s41588-021-00854-7
22. Carracedo Á., Spanish COalition to Unlock Research on host GEnetics on COVID-19 (SCOURGE). A genome-wide association study of COVID-19 related hospitalization in Spain reveals genetic disparities among sexes // *medRxiv*. 2021. doi: 10.1101/2021.11.24.21266741
23. Roberts G.H.L., Park D.S., Coignet M.V., et al. AncestryDNA COVID-19 host genetic study identifies three novel loci // *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.10.06.20205864
24. Horowitz J.E., Kosmicki J.A., Damask A., et al. Genome-wide analysis provides genetic evidence that ACE2 influences COVID-19 risk and yields risk scores associated with severe disease // *Nat Genet*. 2022. Vol. 54, N 4. P. 382–392. doi: 10.1038/s41588-021-01006-7
25. 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. Vol. 54, N 2. P. 125–127. doi: 10.1038/s41588-021-00996-8
26. Mutambudzi M., Niedwiedz C., Macdonald E.B., et al. Occupation and risk of severe COVID-19: prospective cohort study of 120 075 UK Biobank participants // *Occup Environ Med*. 2020. Corrected and republished from: *Occup Environ Med*. 2022. Vol. 79, N 2. P. e3. doi: 10.1136/oemed-2020-106731
27. Butler-Laporte G., Povysil G., Kosmicki J.A., et al. Exome-wide association study to identify rare variants influencing COVID-19 outcomes: results from the Host Genetics Initiative // *PLoS Genet*. 2022. Vol. 18, N 11. P. e1010367. doi: 10.1371/journal.pgen.1010367
28. Casanova J.L. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015. Vol. 112, N 51. P. E7128–E7137. doi: 10.1073/pnas.1521651112
29. Lim H.K., Huang S.X.L., Chen J., et al. Severe influenza pneumonitis in children with inherited TLR3 deficiency // *J Exp Med*. 2019. Vol. 216, N 9. P. 2038–2056. doi: 10.1084/jem.20181621
30. D'Alessandro A., Thomas T., Akpan I.J., et al. Biological and clinical factors contributing to the metabolic heterogeneity of hospitalized patients with and without COVID-19 // *Cells*. 2021. Vol. 10, N 9. P. 2293. doi: 10.3390/cells10092293
31. Downes D.J., Cross A.R., Hua P., et al. Identification of LZTFL1 as a candidate effector gene at a COVID-19 risk locus // *Nat Genet*. 2021. Vol. 53, N 11. P. 1606–1615. doi: 10.1038/s41588-021-00955-3
32. Stewart C.A., Gay C.M., Ramkumar K., et al. Lung cancer models reveal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2–induced

epithelial-to-mesenchymal transition contributes to coronavirus disease 2019 pathophysiology // *J Thorac Oncol*. 2021. Vol. 16, N 11. P. 1821–1839. doi: 10.1016/j.jtho.2021.07.002

33. Akbari M., Akhavan-Bahabadi M., Shafigh N., et al. Expression analysis of IFNAR1 and TYK2 transcripts in COVID-19 patients // *Cytokine*. 2022. Vol. 153. P. 155849. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155849

REFERENCES

- COVID-19 National Preparedness Collaborators. Pandemic preparedness and COVID-19: an exploratory analysis of infection and fatality rates, and contextual factors associated with preparedness in 177 countries, from Jan 1, 2020, to Sept 30, 2021. *Lancet*. 2022;399(10334):1489–1512. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00172-6
- Biswas M, Rahaman S, Biswas TK, et al. Association of sex, age, and comorbidities with mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Intervirology*. 2020. doi: 10.1159/000512592
- Wang Y, Wang Y, Chen Y, Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J Med Virol*. 2020;92(6):568–576. doi: 10.1002/jmv.25748
- Fricke-Galindo I, Falfán-Valencia R. Genetics insight for COVID-19 susceptibility and severity: a review. *Front Immunol*. 2021;12:622176. doi: 10.3389/fimmu.2021.622176
- Yousefzadegan S, Rezaei N. Case report: death due to COVID-19 in three brothers. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;102(6):1203–1204. doi: 10.4269/ajtmh.20-0240
- COVID-19 Host Genetics Initiative. A first update on mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2022;608(7921):E1–E10. doi: 10.1038/s41586-022-04826-7
- COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021;600(7889):472–477. doi: 10.1038/s41586-021-03767-x
- The Severe Covid-19 GWAS Group; Ellinghaus D, Degenhardt F, 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
- Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature*. 2021;591(7848):92–98. doi: 10.1038/s41586-020-03065-y
- Kousathanas A, Pairo-Castineira E, Rawlik K, et al. Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19. *Nature*. 2022;607(7917):97–103. doi: 10.1038/s41586-022-04576-6
- Tam V, Patel N, Turcotte M, et al. Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. 2019;20(8):467–484. doi: 10.1038/s41576-019-0127-1
- Taliun D, Harris DN, Kessler MD, et al. Sequencing of 53,831 diverse genomes from the NHLBI TOPMed Program. *Nature*. 2021;590(7845):290–299. doi: 10.1038/s41586-021-03205-y
- Niemi MEK, Daly MJ, Ganna A. The human genetic epidemiology of COVID-19. *Nat Rev Genet*. 2022;23(9):533–546. doi: 10.1038/s41576-022-00478-5
- Redin C, Thorball CW, Fellay J. Host genomics of SARS-CoV-2 infection. *Eur J Hum Genet*. 2022;30(8):908–914. doi: 10.1038/s41431-022-01136-4
- Howe KL, Achuthan P, Allen J, et al. Ensembl 2021. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D884–D891. doi: 10.1093/nar/gkaa942
- Beazley DM. *Python essential reference*. 3rd ed. Developer's library; 2006. 625 p.
- Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434–443. Corrected and republished from: *Nature*. 2021;590(7846):E53. doi: 10.1038/s41586-020-2308-7
- Zhang Q, Bastard P, Liu Z, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020;370(6515):eabd4570. doi: 10.1126/science.abd4570
- Zhang Q, Bastard P, COVID Human Genetic Effort; et al. Human genetic and immunological determinants of critical COVID-19 pneumonia. *Nature*. 2022;603(7902):587–598. doi: 10.1038/s41586-022-04447-0
- Bastard P, Orlova E, Sozaeva L, et al. Preexisting autoantibodies to type I IFNs underlie critical COVID-19 pneumonia in patients with APS-1. *J Exp Med*. 2021;218(7):e20210554. doi: 10.1084/jem.20210554
- Shelton JF, Shastri AJ, Ye C, et al. Trans-ancestry analysis reveals genetic and nongenetic associations with COVID-19 susceptibility and severity. *Nat Genet*. 2021;53(6):801–808. doi: 10.1038/s41588-021-00854-7
- Carracedo Á, Spanish COalition to Unlock Research on host GEnetics on COVID-19 (SCOURGE). A genome-wide association study of COVID-19 related hospitalization in Spain reveals genetic disparities among sexes. *medRxiv*. 2021. doi: 10.1101/2021.11.24.21266741
- Roberts GHL, Park DS, Coignet MV, et al. AncestryDNA COVID-19 host genetic study identifies three novel loci. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.10.06.20205864
- Horowitz JE, Kosmicki JA, Damask A, et al. Genome-wide analysis provides genetic evidence that ACE2 influences COVID-19 risk and yields risk scores associated with severe disease. *Nat Genet*. 2022;54(4):382–392. doi: 10.1038/s41588-021-01006-7
- Huffman JE, 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
- Mutambudzi M, Niedzwiedz C, Macdonald EB, et al. Occupation and risk of severe COVID-19: prospective cohort study of 120 075 UK Biobank participants. *Occup Environ Med*. Corrected and republished from: *Occup Environ Med*. 2022;79(2):e3. doi: 10.1136/oemed-2020-106731
- Butler-Laporte G, Povysil G, Kosmicki JA, et al. Exome-wide association study to identify rare variants influencing COVID-19 outcomes: results from the Host Genetics Initiative. *PLoS Genet*. 2022;18(11):e1010367. doi: 10.1371/journal.pgen.1010367
- Casanova JL. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(51):E7128–E7137. doi: 10.1073/pnas.1521651112
- Lim HK, Huang SXL, Chen J, et al. Severe influenza pneumonitis in children with inherited TLR3 deficiency. *J Exp Med*. 2019;216(9):2038–2056. doi: 10.1084/jem.20181621
- D'Alessandro A, Thomas T, Akpan IJ, et al. Biological and clinical factors contributing to the metabolic heterogeneity of hospitalized patients with and without COVID-19. *Cells*. 2021;10(9):2293. doi: 10.3390/cells10092293

31. Downes DJ, Cross AR, Hua P, et al. Identification of LZTFL1 as a candidate effector gene at a COVID-19 risk locus. *Nat Genet.* 2021;53(11):1606–1615. doi: 10.1038/s41588-021-00955-3
32. Stewart CA, Gay CM, Ramkumar K, et al. Lung cancer models reveal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-induced epithelial-to-mesenchymal transition contributes to coronavirus

- disease 2019 pathophysiology. *J Thorac Oncol.* 2021;16(11):1821–1839. doi: 10.1016/j.jtho.2021.07.002
33. Akbari M, Akhavan-Bahabadi M, Shafigh N, et al. Expression analysis of IFNAR1 and TYK2 transcripts in COVID-19 patients. *Cytokine.* 2022;153:155849. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155849

ОБ АВТОРАХ

* **Апалько Светлана Вячеславовна**, канд. биол. наук;
адрес: Россия, 197706, Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9;
ORCID: 0000-0002-3853-4185;
eLibrary SPIN: 7053-2507;
e-mail: svetlana.apalko@gmail.com

Ностаева Арина Вячеславовна;
ORCID: 0000-0001-9291-7550;
eLibrary SPIN: 1845-6794;
e-mail: avnostaeva@gmail.com

Шиманский Валентин Сергеевич;
ORCID: 0000-0001-5662-8663;
eLibrary SPIN: 5547-6626;
e-mail: shimansky.valya@yandex.ru

Сушенцева Наталья Николаевна;
ORCID: 0000-0002-5100-5229;
eLibrary SPIN: 5187-2286;
e-mail: natalia@sushentseva.ru

Попов Олег Сергеевич;
ORCID: 0000-0003-1778-0165;
eLibrary SPIN: 5220-9174;
e-mail: ospopov@outlook.com

Анисенкова Анна Юрьевна, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0001-5642-621X;
eLibrary SPIN: 4476-5192;
e-mail: anna_anisenkova@list.ru

Мосенко Сергей Викторович, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-1357-4324;
eLibrary SPIN: 9543-8506;
e-mail: neurologist@mail.ru

Глотов Олег Сергеевич, д-р биол. наук;
ORCID: 0000-0002-0091-2224;
eLibrary SPIN: 4531-3449;
e-mail: olglotov@mail.ru

Сарана Андрей Михайлович, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0003-3198-8990;
eLibrary SPIN: 7922-2751;
e-mail: asarana@mail.ru

Щербак Сергей Григорьевич, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-5036-1259;
eLibrary SPIN: 1537-9822;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Svetlana V. Apalko**, Cand. Sci. (Biology);
address: 9 Borisova street, 197706 Sestroretsk, Russia;
ORCID: 0000-0002-3853-4185;
eLibrary SPIN: 7053-2507;
e-mail: svetlana.apalko@gmail.com

Arina V. Nostaeva;
ORCID: 0000-0001-9291-7550;
eLibrary SPIN: 1845-6794;
e-mail: avnostaeva@gmail.com

Valentin S. Shimansky;
ORCID: 0000-0001-5662-8663;
eLibrary SPIN: 5547-6626;
e-mail: shimansky.valya@yandex.ru

Natalya N. Sushentseva;
ORCID: 0000-0002-5100-5229;
eLibrary SPIN: 5187-2286;
e-mail: natalia@sushentseva.ru

Oleg S. Popov;
ORCID: 0000-0003-1778-0165;
eLibrary SPIN: 5220-9174;
e-mail: ospopov@outlook.com

Anna Yu. Anisenkova, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;
ORCID: 0000-0001-5642-621X;
eLibrary SPIN: 4476-5192;
e-mail: anna_anisenkova@list.ru

Sergey V. Mosenko, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;
ORCID: 0000-0002-1357-4324;
eLibrary SPIN: 9543-8506;
e-mail: neurologist@mail.ru

Oleg S. Glotov, Dr. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0002-0091-2224;
eLibrary SPIN: 4531-3449;
e-mail: olglotov@mail.ru

Andrey M. Sarana, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;
ORCID: 0000-0003-3198-8990;
eLibrary SPIN: 7922-2751;
e-mail: asarana@mail.ru

Sergey G. Shcherbak, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0001-5036-1259;
eLibrary SPIN: 1537-9822;
e-mail: b40@zdrav.spb.ru