

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА (С-159)Т CD14 У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19

**Яцков И.А., Белоглазов В.А., Агеева Е.С., Рымаренко Н.В.,
Жукова А.А., Аблаева Р.Н.**

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Резюме. Кластер дифференцировки 14 (CD14) является паттерн-распознающим рецептором для липополисахарида грамотрицательной флоры и имеет тесную взаимосвязь с толл-подобным рецептором 4-го типа (TLR4). Взаимодействие между CD14 и TLR4 приводит к синтезу таких цитокинов, как интерлейкин-1, интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли- α . К тому же рецептор TLR4, по мнению ряда авторов, связан с процессом проникновения вируса новой коронавирусной инфекции в клетку, дополнительно стимулируя экспрессию основного «ключа» вируса – молекулы ангиотензин превращающего фермента 2 и подавляя апоптоз в инфицированных клетках. К сожалению, работы по изучению полиморфизма (159С) Т-гена CD14 при COVID-19 представлены лишь единичными публикациями, описывающими наблюдения только в западноевропейском регионе. В связи с этим, целью нашего исследования было изучение ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом (ОНП) гена кластера дифференцировки 14 (CD14) – (159С) Т (rs2569190) и восприимчивостью к новой коронавирусной инфекции в популяции Республики Крым. В исследование было включено 158 пациентов (87 женщин (55%) и 71 (45%) мужчина, средний возраст $45,6 \pm 6,14$ лет), перенесших COVID-19, проходивших реабилитацию в постковидном периоде в пульмонологическом отделении ГБУЗ РК «АНИИ им. И.М. Сеченова». Верификация перенесенной инфекции COVID-19 была основана на анамнестических данных и данных, проведенных на момент заболевания исследований (ПЦР). Контрольная группа составила 85 здоровых респондентов, по данным анамнеза не перенесших новую коронавирусную инфекцию. Для анализа полиморфизма (С-159)Т гена CD14 использовали аллель-специфическую ПЦР с электрофоретической детекцией в 3% агарозном геле (НПФ «Литех», Россия). Для сравнения частот комбинаций аллелей использовали критерий χ^2 и отношение шансов (95% ДИ). Распределение мутаций CD14 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Результаты исследования показали, что распределение полиморфных вариантов генотипов гена CD14 достоверно не отличалось во всех исследуемых группах. Доминирующим генотипом был гетерозиготный генотип СТ полиморфизма (С-159)Т гена CD14. Анализ показал, что наличие ОНП СТ и ТТ не было ассоциировано с риском развития новой коронавирусной инфекции ($p > 0,05$).

Адрес для переписки:

*Агеева Елизавета Сергеевна
Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский
институт имени С.И. Георгиевского
295051, Россия, Республика Крым,
г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.
Тел.: 8 (983) 257-83-49.
E-mail: ageevaeliz@rambler.ru*

Address for correspondence:

*Elizaveta S. Ageeva
Order of Labor Red Banner S. Georgievsky
Medical Institute
5/7 Lenin Blvd
Simferopol, Republic of Crimea
295051 Russian Federation
Phone: +7 (983) 257-83-49.
E-mail: ageevaeliz@rambler.ru*

Образец цитирования:

*И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, Е.С. Агеева,
Н.В. Рымаренко, А.А. Жукова, Р.Н. Аблаева
«Полиморфизм гена (С-159)Т CD14 у реконвалесцентов
COVID-19» // Российский иммунологический журнал,
2024. Т. 27, № 3. С. 683-688.
doi: 10.46235/1028-7221-16718-CGP*

© Яцков И.А. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

*I.A. Yatskov, V.A. Beloglazov, E.S. Ageeva, N.V. Rymarenko,
A.A. Zhukova, R.N. Ablayeva "CD14 gene polymorphism
in COVID-19 convalescents: analysis of (C-159)T", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 683-688.
doi: 10.46235/1028-7221-16718-CGP*

© Yatskov I.A. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16718-CGP

ОНП (С-159)Т гена CD14 не ассоциирован с более высоким риском заражения COVID-19. Распределения встречаемости вариантов ОНП в группе переболевших лиц достоверно не отличалось от такового в группе контроля ($p > 0,05$).

Ключевые слова: полиморфизм, новая коронавирусная инфекция, (С-159)Т, CD14, SARS-CoV-2, TLR4, однонуклеотидный полиморфизм

CD14 GENE POLYMORPHISM IN COVID-19 CONVALESCENTS: ANALYSIS OF (C-159)T

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ageeva E.S., Rymarenko N.V., Zhukova A.A., Ablayeva R.N.

Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Abstract. Cluster of differentiation 14 (CD14) is a pattern recognition receptor for lipopolysaccharide of gram-negative flora and has a close relationship with toll-like receptor 4 (TLR4). The interaction between CD14 and TLR 4 leads to the synthesis of cytokines such as interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . The TLR4 receptor is associated with the penetration of the new coronavirus infection virus into the cell, additionally stimulating the expression of the angiotensin converting enzyme 2 molecule and suppressing apoptosis in infected cells. Work on the study of the (159C)T polymorphism of the CD14 gene in COVID-19 is represented by only a few publications describing observations only in the Western European region. The purpose of our study was to study the association between single nucleotide polymorphism (SNP) of the CD14 gene – (159C)T (rs2569190) and susceptibility to a new coronavirus infection in the population of the Republic of Crimea. The study included 158 patients (87 women (55%) and 71 (45%) men, average age 45.6 ± 6.14 years) who had COVID-19. Verification of previous COVID-19 was based on anamnestic data and data from studies performed at the time of illness (PCR). The control group consisted of 85 respondents who had not suffered a new coronavirus infection. To analyze the (C-159)T polymorphism of the CD14 gene, allele-specific PCR with electrophoretic detection in a 3% agarose gel (NPF "Litekh", Russia) was used. To compare the frequencies of allele combinations, the χ^2 test and odds ratio (95% CI) were used. The distribution of CD14 mutations followed Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). The results of the study showed that the distribution of CD14 gene genotypes did not differ significantly in all study groups. The dominant genotype was the heterozygous genotype CT of the (C-159)T polymorphism of the CD14 gene. The analysis showed that the presence of CT and TT SNPs was not associated with the risk of developing a new coronavirus infection ($p > 0.05$). Conclusions. The CD14 SNP (C-159)T is not associated with a higher risk of COVID-19 infection. The distribution of occurrence of SNP variants in the group of recovered individuals did not differ significantly from that in the control group ($p > 0.05$).

Keywords: polymorphism, new coronavirus infection, (C-159)T, CD14, SARS-CoV-2, TLR4, single nucleotide polymorphism

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-20021, <https://rscf.ru/project/23-15-20021/>.

Введение

Кластер дифференцировки 14 (CD14) в основном экспрессируется на поверхности клеточных мембран клеток моноцитарно-макрофагального ряда [3] и является компонентом врожденной иммунной системы, распознающим ряд антигенных паттернов, а в частности липополи-

сахарид (ЛПС, эндотоксин) грамотрицательной флоры [6, 15]. CD14, взаимодействуя с толл-подобным рецептором 4-го типа (TLR4), запускает провоспалительный каскад, приводя к синтезу таких цитокинов, как интерлейкин-1 (IL-1), IL-6, фактор некроза опухоли- α (TNF α) [13]. К тому же рецептор TLR4 по мнению ряда авторов связан с процессом проникновения вируса новой коронавирусной инфекции (НКИ) в клетку, дополнительно стимулируя экспрессию основного «ключа» вируса – молекулы ангиотензин превра-

шающего фермента 2 и подавляя апоптоз в инфицированных клетках [4, 12].

Ген CD14 человека расположен на хромосоме 5q31.1 [13]. Одним из наиболее изученных однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена CD14 является (159С)Т (rs2569190), включающий замену аллеля С на Т, что приводит к повышению транскрипционной активности и экспрессии молекулы CD14 [2].

В литературе имеются данные об особенностях полиморфизма (159С)Т гена CD14 при инфекционной патологии различного генеза, бруцеллезе [8], хламидийной инфекции [11], туберкулезе [3], инфекции *Helicobacter pylori* [5], вирусных гепатитах В и С [7], вирусе тяжелого острого респираторного синдрома [14], а также вирусе гриппа H1N1, где С-аллель полиморфизма CD14 (С-159)Т была ассоциирована с тяжелым течением и развитием жизнеугрожающих осложнений, а выявленный в двух случаях гаплотип (CD14 (159СС); FCGR2A (166Arg/Arg)), привел к фульминантному течению заболевания и летальному исходу [1].

К сожалению, работы по изучению полиморфизма (159С)Т гена CD14 при НКИ представлены лишь единичными публикациями, описывающими наблюдения только в западноевропейском регионе [10]. В связи с этим **целью нашего исследования** было изучение ассоциации между полиморфизмом гена (159С)Т (rs2569190) CD14 и восприимчивостью к новой коронавирусной инфекции (НКИ) в популяции Республики Крым.

Материалы и методы

В исследование было включено 158 пациентов (87 женщин (55%) и 71 (45%) мужчина, средний возраст $45,6 \pm 6,14$ лет), перенесших НКИ, проходивших реабилитацию в постковидном периоде в пульмонологическом отделении ГБУЗ РК «АНИИ им. И.М. Сеченова».

Критериями включения в исследование были: предшествующая новая коронавирусная инфекция. Подписанное информированное согласие на включение в исследование. Критериями исключения были: наличие осложненных форм вирусной пневмонии при наличии тяжелых функциональных легочных и внелегочных нарушений, возраст старше 75 лет.

Верификация перенесенной НКИ была основана на анамнестических данных и данных, проведенных на момент заболевания исследований (ПЦР). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Контрольную группу составили 85 относительно здоровых респондентов, не перенесших НКИ в анамнезе, 46 женщин (54%) и 39 муж-

чин (45%), средний возраст которых составил $42,2 \pm 4,32$ года.

Исследование проводилось в соответствии с правилами Хельсинкской декларации 1975 года, пересмотренной в 2013 году и одобренной Этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Протокол комитета ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (Симферополь) от 23 июня 2023 года (№ 7).

Для анализа полиморфизма CD14 (С-159)Т использовалась аллель-специфическая полимеразная цепная реакция с электрофоретической детекцией. ДНК выделяли из цельной крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией и здоровых добровольцев с помощью набора для выделения ДНК-экспресс из крови в соответствии с предоставленной производителем инструкцией. Аллель-специфическую ПЦР проводили с использованием набора «CD14 (С-159)Т» (НПФ «Литех», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Детекция продуктов амплификации проводилась методом горизонтального электрофореза в 3%-ном агарозном геле.

Исследование проводилось в центре коллективного пользования научного оборудования «Молекулярная биология» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Статистический анализ полученных данных производился с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 27. Ожидаемую частоту аллелей рассчитывали на основе закона Харди–Вайнберга. Для сравнения частот сочетаний аллелей использовали тест χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Ассоциация полиморфизмов с новой коронавирусной инфекцией анализировалась путем определения отношения шансов (ОШ) и 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ), $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Распределение мутаций CD14 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Распределение полиморфных вариантов генотипов гена CD14 достоверно не отличалось во всех исследуемых группах. Доминирующим генотипом был гетерозиготный генотип СТ полиморфизма (С-159)Т гена CD14 (табл. 1, рис. 1).

Результаты нашего исследования показали, что наличие ОНП СТ и ТТ не было ассоциировано с риском развития новой коронавирусной инфекции ($p > 0,05$).

Abhijit Pati и соавт. ранее представили публикацию, в которой был проведен анализ работ по влиянию полиморфизма гена CD14 (С-159)Т, на тяжесть течения COVID-19, основанный на допандемических данных генетических иссле-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОТИПА ПОЛИМОРФИЗМА CD14 (159C)T У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ (χ^2 , df = 1)

TABLE 1. ALLELE FREQUENCIES OF THE CD14 (159C)T POLYMORPHISM GENOTYPE IN COVID-19 SURVIVORS AND THE CONTROL GROUP (χ^2 , df = 1)

| Генотип Genotype | COVID-19 n (%) | Контроль Controls n (%) | χ^2 | p | ОШ OR | 95% ДИ 95% CI |
|---------------------|-------------------|-------------------------------|----------|-------|----------|------------------|
| ТТ | 33 (20,8) | 18 (21,2) | 0,013 | 0,911 | 0,983 | 0,515-1,876 |
| СТ | 74 (46,9) | 44 (51,8) | 0,358 | 0,550 | 0,821 | 0,484-1,392 |
| СС | 51 (32,3) | 23 (27,0) | 0,486 | 0,486 | – | – |

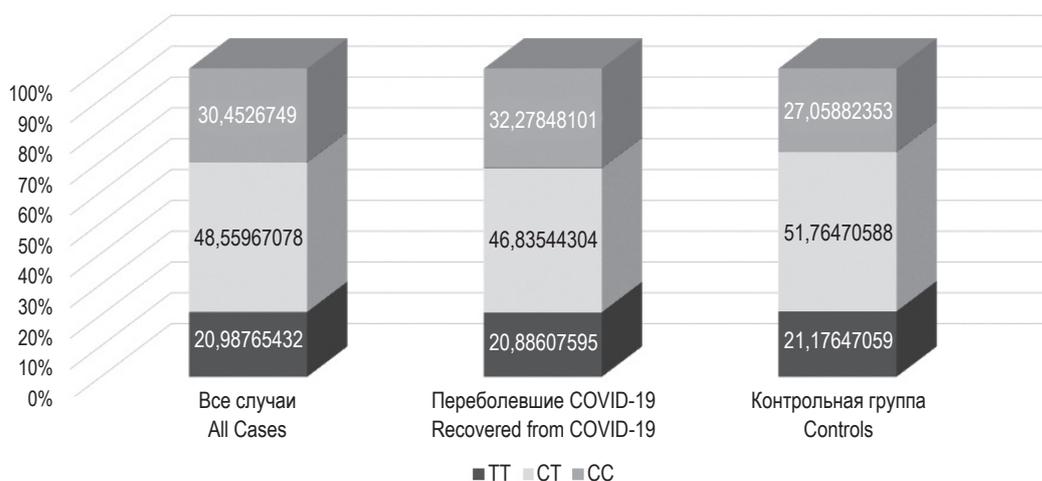


Рисунок 1. Частоты генотипа (С-159)Т полиморфизма гена CD14 в исследуемых группах (p > 0,05)

Figure 1. Frequencies of genotype (C-159)T polymorphism of the CD14 gene in the studied groups (p > 0.05)

дований. Авторы сообщили о наличии прямой корреляционной связи между показателем инфицирования НКИ на миллион населения и наличием минорного Т-аллеля гена CD14 (С-159)Т ($r = 0,57$, $p = 0,005$). В дополнение к этому, прямая корреляционная связь была выявлена между аллелем Т и показателем смертности от COVID-19 на миллион человек ($r = 0,61$, $p = 0,003$) [10]. Несмотря на то, что точный механизм влияния минорного аллеля (Т) на восприимчивость к НКИ неизвестен, полученные результаты подтверждают возможную роль ОНП (С-159)Т гена CD14 в восприимчивости, тяжести течения и исходе заболевания при НКИ.

Одним из возможных патогенетических путей является описанное в литературе повышение уровня sCD14 при выявлении минорного аллеля Т ОНП (С-159)Т гена CD14 [9], что в конечном итоге приводит к усиленному влиянию части агентов, в том числе ЛПС на клетки немиелоидного ряда, такие как эндотелиоциты, а также

повышенной активации TLR4-зависимых провоспалительных путей. Стоит отметить, что в исследовании существуют заметные ограничения, описанные и самими авторами. Анализ проводился только в ряде стран западной и центральной Европы, исследование носило характер обсервационного корреляционного, уступающим в точности выявления генетических особенностей предрасположенности к возникновению заболевания и тяжести течения дизайну «случай-контроль», к тому же авторы не учитывали факторы, влияющие на смертность от НКИ [9].

Выводы

- 1) ОНП (С-159)Т гена CD14 не ассоциирован с более высоким риском заражения НКИ.
- 2) Распределения встречаемости вариантов ОНП в группе переболевших лиц достоверно не отличалось от такового в группе контроля ($p > 0,05$).

Список литературы / References

1. Петров А.А., Страмбовская Н.Н., Говорин А.В., Витковский Ю.А. Генетический полиморфизм CD14, TNF α и FCGR2A у больных гриппом А H1N1 в Забайкальском крае // Медицинская иммунология, 2011. Т.13, № 1. С. 83-86. [Petrov V.V., Strambovskaya N.N., Govorin A.V., Vitkovsky Yu.A. Genetic polymorphisms of CD14, TNF α and FCGR2A in the patients with influenza A H1N1 in transbaikalia region. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2011, Vol. 13, no. 1, pp. 83-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2011-1-83-86.
2. Areeshi M.Y., Mandal R.K., Panda A.K., Bisht S.C., Haque S. CD14-159 C > T gene polymorphism with increased risk of tuberculosis: evidence from a meta-analysis. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 5, e64747. doi: 10.1371/journal.pone.0064747.
3. Ayaslioglu E., Kalpaklioglu F., Kavut A.B., Erturk A., Capan N., Birben E. The role of CD14 gene promoter polymorphism in tuberculosis susceptibility. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2013, Vol. 46, no. 3, pp. 158-163.
4. Choudhury A., Mukherjee S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. *J. Med. Virol.*, 2020, Vol. 92, no. 10, pp. 2105-2113.
5. Karhukorpi J., Yan Y., Niemela S., Valtonen J., Koistinen P., Joensuu T. Effect of CD14 promoter polymorphism and *H. pylori* infection and its clinical outcomes on circulating CD14. *Clin. Exp. Immunol.*, 2002, Vol. 128, no. 2, pp. 326-332.
6. Martinez F.D. CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2007, Vol. 4, no. 3, pp. 221-225.
7. Meiler C., Muhlbauer M., Johann M., Hartmann A., Schnabl B., Wodarz N. Different effects of a CD14 gene polymorphism on disease outcome in patients with alcoholic liver disease and chronic hepatitis C infection. *World J. Gastroenterol.*, 2005, Vol. 11, no. 38, pp. 6031-6037.
8. Moghadampour M., Eskandari-Nasab E., Shabani F. Relationship between CD14-159C/T gene polymorphism and acute brucellosis risk. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2016, Vol. 9, no. 3, pp. 247-251.
9. Panda A.K., Tripathy R., Das B. K. CD14 (C-159T) polymorphism is associated with increased susceptibility to SLE, and plasma levels of soluble CD14 is a novel biomarker of disease activity: A hospital-based case-control study. *Lupus*, 2021, Vol. 30, no. 2, pp. 219-227.
10. Pati A., Padhi S., Panda D., Suvankar S., Panda A.K. A CD14 Polymorphism (C-159T rs2569190) Is Associated with SARS-CoV-2 Infection and Mortality in the European Population. *J. Infect. Dis.*, 2021, Vol. 224, no. 5, pp. 921-922.
11. Rupp J., Goepel W., Kramme E., Jahn J., Solbach W., Maass M. CD14 promoter polymorphism -159C > T is associated with susceptibility to chronic Chlamydia pneumoniae infection in peripheral blood monocytes. *Genes Immun.*, 2004, Vol. 5, no. 5, pp. 435-438.
12. Teixeira J.P., Barone S., Zahedi K., Soleimani M. Kidney Injury in COVID-19: Epidemiology, Molecular Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 4, 2242. doi: 10.3390/ijms23042242.
13. Wu Z., Zhang Z., Lei Z., Lei P. CD14: Biology and role in the pathogenesis of disease. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2019, Vol. 48, pp. 24-31.
14. Yuan F.F., Boehm I., Chan P.K., Marks K., Tang J.W., Hui D.S. High prevalence of the CD14-159CC genotype in patients infected with severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, Vol. 14, no. 12, pp. 1644-1645.
15. Zanoni I., Granucci F. Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2013, Vol. 3, 32. doi: 10.3389/fcimb.2013.00032.

Авторы:

Яцков И.А. — к.м.н., доцент кафедры внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Белоглазов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Authors:

Yatskov I.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Internal Medicine No. 2, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Beloglazov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Internal Medicine No. 2, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Агеева Е.С. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Рымаренко Н.В. — д.м.н., профессор, профессор кафедры педиатрии с курсом инфекционных болезней, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Жукова А.А. — к.б.н., доцент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Аблаева Р.Н. — ассистент кафедры биологии медицинской, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Ageeva E.S., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Medical Biology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Rymarenko N.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor, Department of Pediatrics with a Course in Childhood Infectious Diseases, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Zhukova A.A., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Medical Biology, Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Ablaeva R.N., Assistant professor, Department of Medical Biology., Order of Labor Red Banner S. Georgievsky Medical Institute, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

Поступила 29.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 29.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024