

doi 10.18699/vjgb-26-08

Транскриптомика тяжелой формы COVID-19

А.А. Гусарова , Е.А. Трифонова , А.А. Бабовская , М.М. Гавриленко , В.А. Степанов 

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

 anastasia.gusarova@medgenetics.ru

Аннотация. В настоящее время выявление биомаркеров, позволяющих эффективно определить пациентов с риском развития тяжелой формы COVID-19, которая может привести к летальному исходу, считается важной задачей. Изучение патогенетических механизмов перехода умеренной формы в тяжелую с помощью анализа транскриптома крови обеспечивает идентификацию дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), которые могут стать потенциальными прогностическими биомаркерами тяжести инфекции, а также новыми терапевтическими мишенями в борьбе с осложнениями COVID-19. В данном обзорном исследовании проведены поиск и анализ работ по изучению различий в экспрессии генов при применении подхода секвенирования РНК пула клеток крови (bulk RNA-seq) при сравнении умеренной и тяжелой степени коронавирусной инфекции. По результатам пяти работ были определены пять общих, наиболее значимых дифференциально экспрессирующихся генов (*CD177*, *PPARG*, *PCOLCE2*, *SLC51A* и *ADAMTS2*) и рассмотрена их предполагаемая роль в развитии тяжелой формы COVID-19. Проведен анализ функционального обогащения, который определил общие пути, в которые вовлечены гены, дифференциально экспрессирующиеся при тяжелой форме COVID-19, такие как активация процессов дегрануляции нейтрофилов, путей интерлейкинов, биосинтеза коллагена и подавление путей адаптивного и опосредованного NK-клетками иммунного ответа. Проанализированы также результаты секвенирования РНК единичных клеток (single-cell RNA-seq) в изучении умеренной и тяжелой форм, подтверждающие некоторые результаты bulk RNA-seq. В связи с низкой общностью данных в рассматриваемых работах один из разделов обзора посвящен анализу дизайнов выбранных исследований, включая инструменты анализа, сбор материала и критерии формирования сравниваемых групп. Транскриптомика тяжелой формы COVID-19 раскрывает как клеточные, так и молекулярные механизмы иммунного ответа, дисрегуляция которого может привести к развитию тяжелых проявлений. При этом другие омиксные технологии смогут дополнить пробелы в изучении особенностей тяжелой формы и раскрыть механизмы прогрессирования заболевания для разработки подходов профилактики и терапии COVID-19.

Ключевые слова: тяжелая форма COVID-19; секвенирование РНК; транскриптомика; bulk RNA-seq; single-cell RNA-seq; дифференциально экспрессирующиеся гены

Для цитирования: Гусарова А.А., Трифонова Е.А., Бабовская А.А., Гавриленко М.М., Степанов В.А. Транскриптомика тяжелой формы COVID-19. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(1):101-116. doi 10.18699/vjgb-26-08

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств государственного задания по теме ФНИ № 122020200083-8.

Transcriptomics of severe COVID-19

А.А. Gusarova , Е.А. Trifonova , А.А. Babovskaya , М.М. Gavrilenko , V.A. Stepanov 

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

 anastasia.gusarova@medgenetics.ru

Abstract. Currently, identifying biomarkers that can reliably predict the risk of developing severe COVID-19, potentially leading to fatal outcomes, remains a critical challenge. Studying the pathogenetic mechanisms underlying the progression from moderate to severe disease through blood transcriptome analysis enables the identification of differentially expressed genes (DEGs), which may serve as potential prognostic biomarkers of disease severity and as novel therapeutic targets for managing COVID-19 complications. In this review, we have summarized and analyzed studies that compared gene expression profiles between moderate and severe COVID-19 cases using bulk RNA sequencing of blood cell samples. Based on the results of five studies, five commonly and significantly differentially expressed genes were identified (*CD177*, *PPARG*, *PCOLCE2*, *SLC51A* and *ADAMTS2*), and their potential roles in the progression to severe COVID-19 are discussed. Functional enrichment analysis was performed, and shared pathways associated with severe COVID-19 were identified, including neutrophil degranulation, interleukin signaling, collagen biosynthesis, and suppression of adaptive and NK cell-mediated immune responses. Additionally, single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) studies were reviewed, comparing moderate and severe cases, supporting some of the bulk RNA-seq findings. Due to the limited overlap of data in the reviewed articles, one section of this review focuses on the study designs, including analytical tools, sample collection protocols, and criteria used to define comparison groups. Transcriptomic analysis of

the COVID-19 severe form reveals both cellular and molecular mechanisms of the immune response, the dysregulation of which can lead to the development of severe manifestations. RNA-markers seem to be promising predictors of the severity of COVID-19. At the same time, other omics technologies can fill in the gaps in understanding the characteristics of severe COVID-19 and identify mechanisms of disease progression to develop approaches for COVID-19 prevention and treatment.

Key words: severe COVID-19; RNA sequencing; transcriptomics; bulk RNA-seq; single-cell RNA-seq; differentially expressed genes

For citation: Gusarova A.A., Trifonova E.A., Babovskaya A.A., Gavrilenko M.M., Stepanov V.A. Transcriptomics of severe COVID-19. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(1):101-116. doi 10.18699/vjgb-26-08

Введение

COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) – острая респираторная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2. Клиническая картина COVID-19 имеет широкий спектр проявлений и течения болезни: она варьирует от легкой степени тяжести до крайне тяжелой (Профилактика... COVID-19, 2023). Тяжелая форма может сопровождаться развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), который характеризуется острым началом, тяжелой гипоксемией, двусторонней инфильтрацией и отеком легких. У большинства пациентов с тяжелой формой наблюдается лимфопения, а у некоторых – тромбоэмболические осложнения. Тяжелая степень COVID-19 может привести к полиорганной недостаточности и смертельному исходу (Berlin et al., 2020; Huang C. et al., 2020).

Для определения методов лечения и профилактики тяжелой формы COVID-19 требуется понимание патогенетической основы заболевания, а также ключевых иммунных и воспалительных процессов, которые отличают тяжелое состояние от нетяжелого (Jovic et al., 2022). В настоящее время для раннего выявления пациентов группы риска тяжелого течения COVID-19 применяют лабораторные показатели крови (Chen et al., 2022; Roessler et al., 2023). Биомаркеры, используемые для прогнозирования тяжести COVID-19, включают показатели общего анализа крови (уровни лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, соотношение нейтрофилов и лимфоцитов, уровень тромбоцитов), маркеры воспаления и провоспалительные цитокины (С-реактивный белок, прокальцитонин, ферритин, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-альфа и т. д.), маркеры повреждения органов-мишеней (факторы свертывания крови, D-димер, кардио-маркеры и маркеры функции почек), а также маркеры окислительного стресса (уровни активных форм кислорода и антиоксидантов: витамина С, тиоловых белков, сывороточных параметров системы глутатиона, окислительно-восстановительный статус, перекисное окисление липидов) (Polonikov, 2020; Pincemail et al., 2021; Tabassum et al., 2021; Chen et al., 2022; Karu et al., 2022; Roessler et al., 2023; Liu X. et al., 2024). Данные биомаркеры являются важными индикаторами тяжелой формы COVID-19, однако часто они определяются уже на поздних стадиях заболевания (Chen et al., 2022). В связи с этим приобретают актуальность исследования, направленные на обнаружение потенциальных биомаркеров, которые могут быть измерены на более ранних фазах инфицирования и могут прогнозировать особенности иммунной защиты организма от SARS-CoV-2 (Schultze, Aschenbrenner, 2021).

Транскриптомика играет большую роль в определении механизмов, отражающих иммунные реакции организма-хозяина. Изучение транскриптомных профилей пациентов с различной степенью тяжести инфекции может предоставить уникальную информацию о биологических процессах, лежащих в основе тяжести течения, которая может быть использована для выявления прогностических и диагностических биомаркеров и терапевтических мишеней (Lee H.J. et al., 2018; Huang W. et al., 2021; Schultze, Aschenbrenner, 2021). На сегодняшний день наиболее распространенный метод расшифровки транскриптома – высокопроизводительное секвенирование РНК (RNA-seq), которое является количественной системой для профилирования экспрессии в масштабе генома и, следовательно, применимо для характеристики событий, связанных с нарушением регуляции экспрессии генов у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (Hegenbarth et al., 2022).

Различия в экспрессии генов, выявляемые при разной клинической тяжести болезни, указывают на то, что существуют потенциальные гены, которые связаны с прогрессированием заболевания, а не с заболеванием в целом. Идентификация и функциональная характеристика дифференциально экспрессирующихся генов при тяжелой и умеренной форме заболевания представляются многообещающей стратегией для выявления биомаркеров тяжести течения COVID-19. Это может обеспечить более глубокое понимание патогенеза COVID-19, помогая в выборе методов лечения благодаря расшифровке сложности иммунной реакции организма и открытию новых терапевтических мишеней (Arunachalam et al., 2020; Bando et al., 2023). Однако в настоящее время в клинической практике не установлено точных РНК-маркеров, позволяющих определить пациентов, у которых может развиваться тяжелое состояние при COVID-19.

Таким образом, в представленной обзорной статье мы сфокусировались на поиске общих генов при анализе дифференциальной экспрессии генов, полученных при исследовании умеренной и тяжелой форм COVID-19 с помощью секвенирования РНК лейкоцитов крови.

Полнотранскриптомный анализ крови при различной степени тяжести COVID-19

На 2025 г. проведены множественные работы по изучению транскриптома при COVID-19. Количество различных наборов данных в базе данных GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) составляет около 300, при этом оригинальных исследований в поисковой системе PubMed насчитыва-

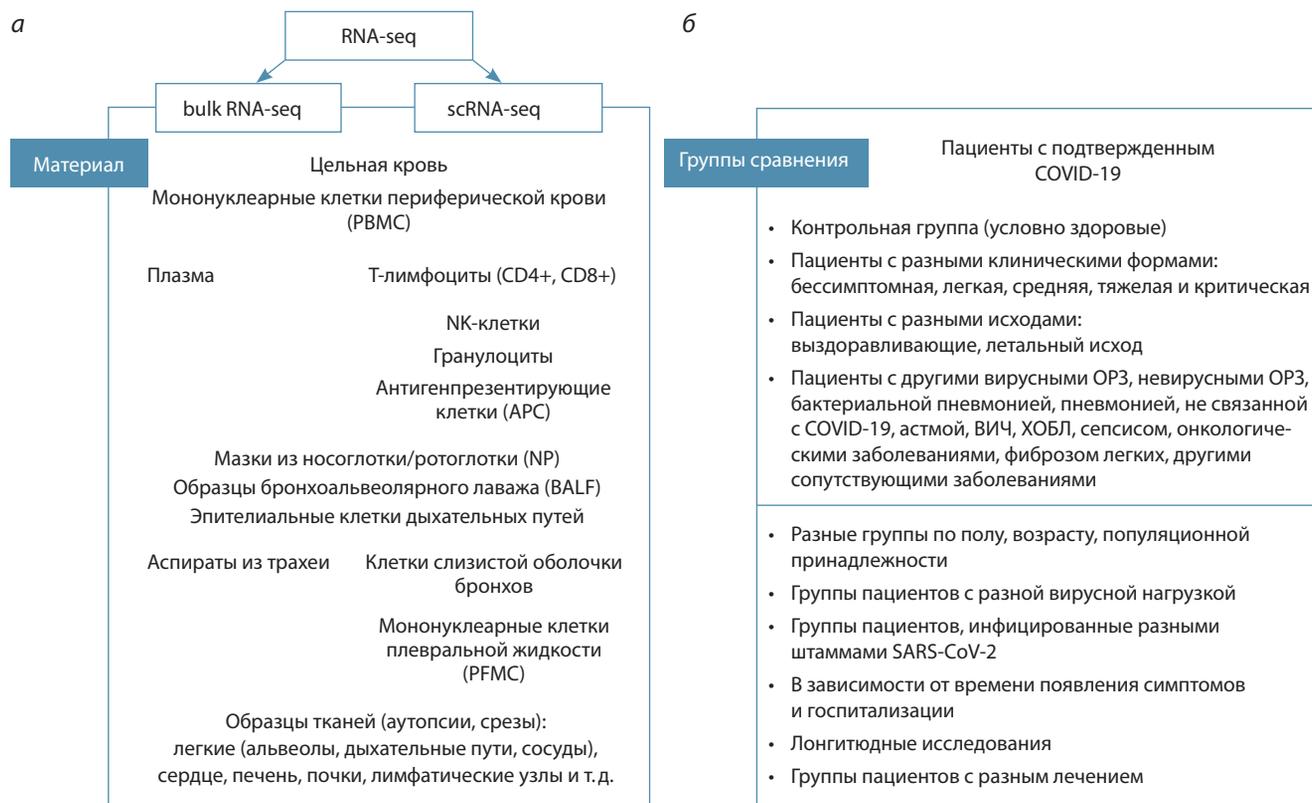


Рис. 1. Подходы РНК-секвенирования, материалы (а) и группы сравнения (б) в исследовании средней и тяжелой форм COVID-19.

ется более 60. Их дизайн включает различные подходы секвенирования РНК, группы сравнения и анализируемые материалы (рис. 1).

Так, основным материалом для профилирования экспрессии генов является кровь и ее компоненты. В связи с клиническими проявлениями COVID-19 изучаются транскриптомы мазков из носоглотки/ротоглотки (Chua et al., 2020; Hadzega et al., 2024), образцов бронхоальвеолярного лаважа (BALF) (Xiong et al., 2020; Nassir et al., 2021) и т. д. Кроме того, поскольку рецептор, связывающийся с SARS-CoV-2, обнаружен во многих тканях (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9BYF1/entry>), исследуется влияние коронавирусной инфекции и на другие системы органов, включая анализ транскриптомов тканей сердца, печени, почек, лимфатических узлов (Delogeу et al., 2021), а также главной мишени SARS-CoV-2 – ткани легких (см. рис. 1, а). Группы сравнения включают пациентов с подтвержденным COVID-19 и контрольную группу, состоящую из условно здоровых индивидов. В единичных работах сравниваются транскриптомные профили у разных клинических форм: бессимптомной формы, легкой, средней, тяжелой, критической, а также при разных исходах, включая выздоравливающих пациентов и летальные случаи. Помимо того, изучаются различия между коронавирусной инфекцией и другими вирусными и невирусными ОРЗ, бактериальной пневмонией, астмой и ХОБЛ, сепсисом, фиброзом легких, различными сопутствующими заболеваниями (Blanco-Melo et al., 2020; COvid-19 Multi-omics Blood ATlas (COMBAT) Consortium, 2022). Анализ может

включать разные группы пациентов с COVID-19 по полу, возрасту, популяционной принадлежности, с высокой и низкой вирусной нагрузкой, в зависимости от времени появления симптомов и времени взятия материала, группы пациентов без лечения и с лечением определенным препаратом, разные штаммы SARS-CoV-2 (см. рис. 1, б).

В большинстве работ по транскриптомике COVID-19 периферическая кровь является основным источником обнаружения биомаркеров заболевания. Изменения в транскриптомных профилях крови могут быть вызваны воздействием иммуногенных факторов и/или изменениями в относительном составе иммунных клеток (Chaussabel et al., 2010). Общая дисрегуляция определенных генов может предполагать определенный механизм иммунного ответа. Для выявления наиболее надежных биомаркеров мы провели поиск общих дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в нескольких независимых исследованиях при умеренной и тяжелой формах COVID-19. Это может снижать вероятность того, что наблюдаемый паттерн экспрессии вызван гетерогенностью клеточной популяции (Song et al., 2017).

При поиске в системе PubMed статей, где показаны данные по дифференциальной экспрессии генов при тяжелом и умеренном течении COVID-19 с помощью секвенирования РНК, были использованы такие ключевые слова и выражения, как: “severe COVID-19”, “moderate COVID-19”, “mild COVID-19”, “bulk RNA-sequencing”. Таким образом, критериями отбора являлись анализ транскриптома цельной крови, полученного с помощью секвенирования РНК

Таблица 1. Исследования, в которых проведен полнотранскриптомный анализ тяжелой и легкой/средней форм COVID-19

№ п/п	Исследование	Группы сравнения и количество пациентов	Платформа	Результаты
1	Tang et al., 2020	Тяжелая форма (n = 6) и умеренная форма (n = 6)	HiSeq 4000 (Illumina)	3082 ДЭГ (2267↑, 815↓)
2	Aschenbrenner et al., 2021	Тяжелая форма (n = 20) и легкая форма (n = 19)	NovaSeq 6000 (Illumina)	1097 ДЭГ (623↑, 474↓)
3	Jackson et al., 2022	Тяжелая форма (n = 10) и легкая форма (n = 19); тяжелая форма и умеренная форма (n = 26)		7343 ДЭГ (3329↑, 4014↓); 8971 ДЭГ (4380↑, 4591↓)
4	Wang Y. et al., 2023	Тяжелая форма (n = 32) и умеренная форма (n = 25); тяжелая форма и легкая форма (n = 31)		1448 ДЭГ (1013↑, 435↓); 4592 ДЭГ (2617↑, 1975↓)
5	Armignacco et al., 2024	Пневмония тяжелой степени (n = 11) и пневмония легкой степени (n = 53)		345 ДЭГ (237↑, 108↓)

Примечание. ДЭГ – дифференциально экспрессирующиеся гены; ↑ – гиперэкспрессия; ↓ – гипоекспрессия.

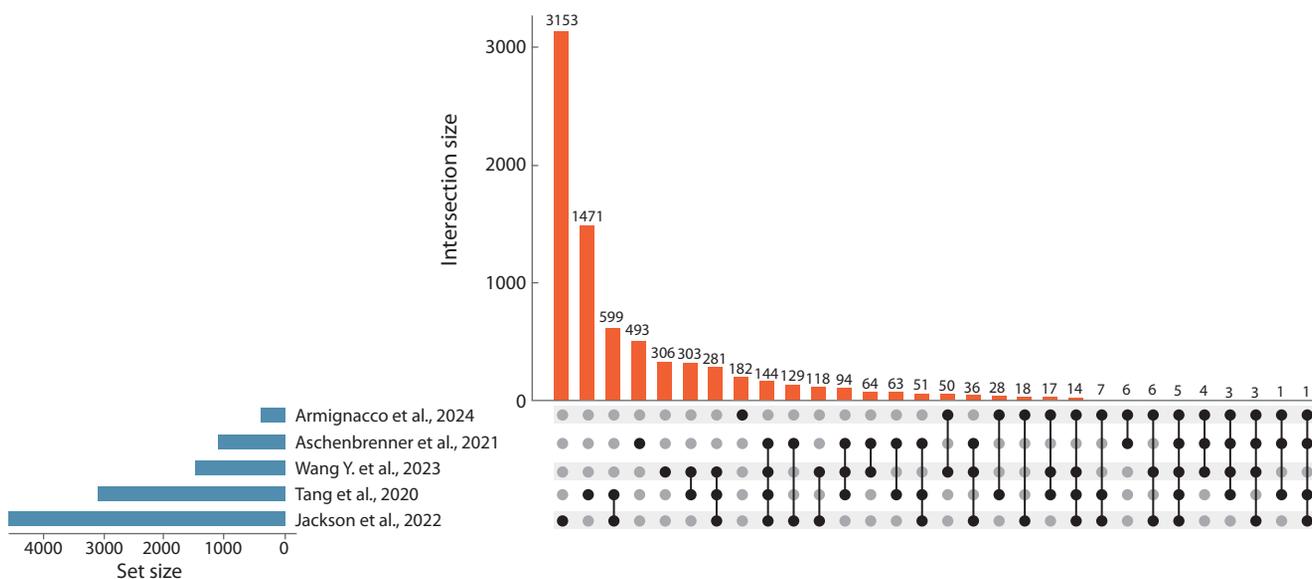


Рис. 2. График UpSet plot, отражающий количество дифференциально экспрессирующихся генов при сравнении результатов выбранных исследований.

Столбчатая диаграмма, расположенная слева, показывает количество выявленных ДЭГ для каждого исследования. Круги, составляющие матрицу, представляют собой секции диаграммы Венна. Соединенные круги указывают на пересечение генов между определенными исследованиями. Столбчатая диаграмма над матрицей показывает количество уникальных или перекрывающихся ДЭГ. Например, первый и второй столбцы диаграммы отражают количество уникальных генов для исследований (Jackson et al., 2022) и (Tang et al., 2020) – 3153 и 1471 ДЭГ соответственно. Третий столбец показывает количество общих генов только для данной пары (599 ДЭГ). Для работ (Jackson et al., 2022; Wang Y. et al., 2023) были включены общие ДЭГ, полученные при сравнении тяжелой и нетяжелой форм согласно классификации тяжести ВОЗ. Диаграмма построена с помощью <https://intervene.shinyapps.io/intervene/> (Khan, Mathelier, 2017).

пула клеток крови (bulk RNA-seq) у определенных групп сравнения – тяжелой формы и умеренной/легкой формы COVID-19 (severe versus moderate/mild). В анализ были включены работы, точно соответствующие критериям, их характеристика представлена в табл. 1.

Всего при сравнении групп тяжелой формы и умеренной/легкой форм в данных работах было идентифицировано 7650 дифференциально экспрессирующихся генов (рис. 2). Для каждой пары работ количество общих генов составляет от 23 (Aschenbrenner et al., 2021; Armignacco et al., 2024) до 1102 (Tang et al., 2020; Jackson et al., 2022).

При анализе общности ДЭГ отмечалась низкая репликация результатов. Выявлено всего пять генов, которые были идентифицированы при сравнении тяжелой и умеренной форм COVID-19 в каждом из выбранных исследований.

Данные наблюдения могут указывать на значимость изменения экспрессии этих генов в патогенезе тяжелой формы COVID-19.

Характеристика наиболее значимых генов

Более подробно остановимся на характеристике пяти общих, наиболее значимых дифференциально экспрессирующихся генов: *CD177*, *PPARG*, *PCOLCE2*, *SLC51A* (гиперэкспрессированы) и *ADAMTS2* (гипоекспрессирован в исследовании (Armignacco et al., 2024) и гиперэкспрессирован в исследованиях (Tang et al., 2020; Aschenbrenner et al., 2021; Jackson et al., 2022; Wang Y. et al., 2023)).

Ген *PPARG* кодирует ядерный рецептор PPAR γ , активируемый пероксисомным пролифератором гамма. PPAR γ регулирует пероксисомальный путь бета-окисле-

ния жирных кислот, а также активацию макрофагов, ингибируя продукцию воспалительных цитокинов моноцитами (<https://www.genecards.org/>).

Согласно базе данных DisGeNET, этот ген значимо ассоциирован с сахарным диабетом 2-го типа у взрослых и с ожирением, для которых показатель ассоциации ген-болезнь (GDA score) равен 1. Данные патологии являются факторами риска тяжелого течения COVID-19 (de Seabra Rodrigues Dias et al., 2022). Кроме того, выявлена ассоциация с COVID-19 при GDA score равном 0.3 (<https://disgenet.com/>).

Предполагается, что SARS-CoV-2 подавляет экспрессию PPAR в легких и нарушает работу противовоспалительного механизма NF-κB, тем самым вызывая гипервоспалительную реакцию у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (Desterke et al., 2020; Hasankhani et al., 2024). Наблюдаются различные изменения экспрессии гена, в том числе в разных тканях. Например, в работе (Vlasov et al., 2021) экспрессия *PPARG* была повышена у пациентов с неблагоприятным исходом. Авторы предположили, что повышенный уровень PPARγ может быть признаком неразрешенного воспаления в условиях истощения липидов, характерного для тяжелой формы COVID-19 (Pei et al., 2021). По результатам исследований с использованием сетевых подходов ген *PPARG* был предложен в качестве многообещающей терапевтической мишени контроля воспаления при COVID-19 (Auwul et al., 2021; Oh et al., 2021).

SLC51A. Переносчик органических растворенных веществ альфа, кодируемый геном *SLC51A*, является основным компонентом комплекса OSTα/OSTβ, который действует как транспортер, отвечающий за экспорт желчных кислот из энтероцитов.

Согласно базе данных DisGeNET (<https://disgenet.com/>), *SLC51A* значимо ассоциирован с первичным билиарным циррозом печени (GDA score = 0.65), синдромом Байлера (GDA score = 0.5) и с осложнениями сахарного диабета 2-го типа (GDA score = 0.4).

Показано, что *SLC51A* является мишенью для препаратов при лечении COVID-19 (Morselli Gysi et al., 2021). Кроме того, *SLC51A* входит в значимые гены при дифференциации пациентов с сепсисом и определении его эндотипов, клинические характеристики которого часто обсуждаются как общие с тяжелым COVID-19 (Baghela et al., 2023; Fang, Ma, 2023). В инфицированных SARS-CoV-2 органах дыхательных путей и альвеол, полученных из эмбриональных стволовых клеток человека, переносчик *SLC51A* обнаружен в сниженном количестве (Pei et al., 2021). Несмотря на значимость гена *SLC51A* при дифференциации пациентов и определении терапевтических мишеней COVID-19, его роль в механизмах развития тяжести коронавирусной инфекции остается малоизученной.

Ген *CD177* опосредует активацию нейтрофилов, индуцированных TNF-α, включая дегрануляцию и продукцию супероксида, и способствует адгезии нейтрофилов (<https://www.genecards.org/>).

Согласно базе данных DisGeNET, этот ген значимо ассоциирован с миелопролиферативными заболеваниями

(GDA score = 0.35), а также с COVID-19 при GDA score равном 0.25 (<https://disgenet.com/>).

Значимость данного биомаркера при прогнозе тяжелого течения коронавирусной инфекции выявлена в нескольких транскриптомных и протеомных исследованиях (Derakhshani et al., 2021; Lévy et al., 2021; Meizlish et al., 2021; Schimke et al., 2022; Wang Q.S. et al., 2022; Lei, 2024). В работе (Lévy et al., 2021) наблюдались высокая экспрессия *CD177* и более высокий средний уровень данного сывороточного белка в крови у пациентов, находящихся в критическом состоянии. Предполагается, что дегрануляция нейтрофилов вызывает повреждение эндотелия и, следовательно, тромботические осложнения при COVID-19 (Reusch et al., 2021). Таким образом, гиперэкспрессия *CD177* является признаком физиопатологии COVID-19 и может выступать в качестве возможного прогностического фактора прогрессирования заболевания.

PCOLCE2 кодирует белок-энхансер проколлагеновой C-эндопептидазы 2, который обеспечивает активность связывания коллагена и гепарина.

Повышенная экспрессия гена *PCOLCE2* обнаружена у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (Alqutami et al., 2021; Che et al., 2022). При анализе обогащения выявлено, что данный ген участвует в организации внеклеточного матрикса и регуляции воспалительного ответа. Отмечается, что *PCOLCE2* может усиливать активность коллагена, а инфекция SARS-CoV-2 вызывает повышение уровня коллагена I в органоидах и способствует активации сигнальных путей фиброза (Jansen et al., 2022). Предполагается также, что *PCOLCE2* стимулирует выработку активных форм кислорода нейтрофилами и формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) (Yoon et al., 2022).

Ген **ADAMTS2** кодирует представителя семейства белков ADAMTS, который играет ключевую роль в превращении фибриллярных предшественников проколлагена в молекулы коллагена (<https://www.genecards.org/>).

Согласно базе данных DisGeNET, *ADAMTS2* значимо ассоциирован с развитием злокачественной мезотелиомы (GDA score = 0.4), а также с COVID-19 при GDA score равном 0.25 (<https://disgenet.com/>).

Белки ADAMTS участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса, что потенциально может иметь важное значение при развитии легочного фиброза, наблюдаемого у пациентов с тяжелым COVID-19. ДЭГ-анализ и анализ генной онтологии (GO) в группах тяжелого, предкритического и критического COVID-19 показали, что в моноцитах в высокой степени экспрессируются гены, связанные с фиброзом (*AREG*, *EREG*, ген цитокина IL-18) и *ADAMTS2* (Zhang Y. et al., 2022).

Высказано предположение, что ADAMTS2 опосредует путь TGF-β, трансформирующего фактора роста-β (de Seabra Rodrigues Dias et al., 2022). Нарушение передачи сигналов TGF-β может способствовать чрезмерному отложению внеклеточного матрикса в тканях, которое может быть вызвано инфекцией и воспалением (Togami et al., 2017; Deng et al., 2024). Кроме того, TGF-β участвует в поддержании иммунного гомеостаза, подавляя активность иммунокомпетентных клеток: данный цитокин препят-

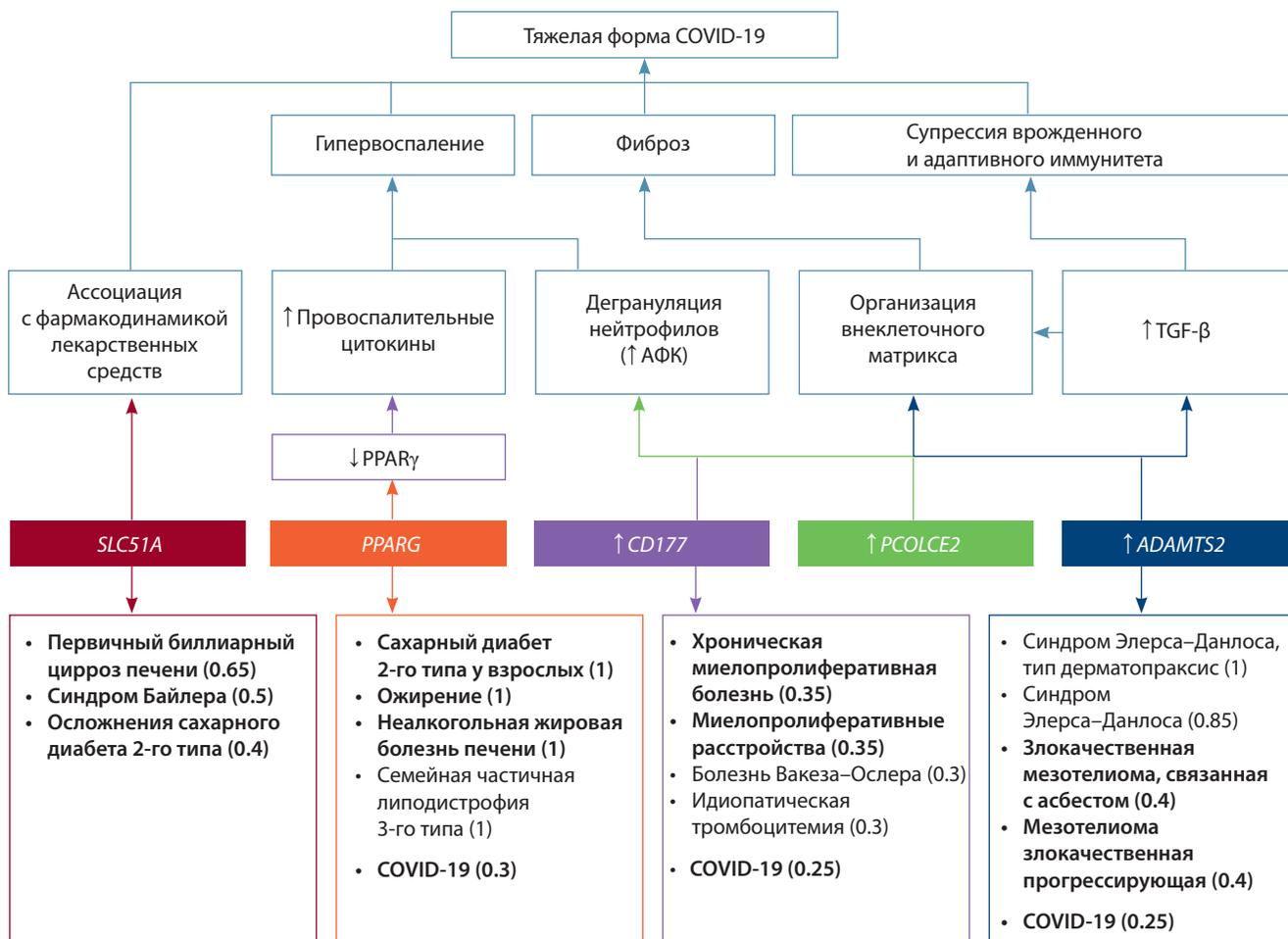


Рис. 3. Патогенетические аспекты тяжелой формы COVID-19, включающие общие гены, встречающиеся в пяти выбранных полнотранскриптомных исследованиях средней и тяжелой форм коронавирусной инфекции, и наиболее значимые ассоциации данных генов с заболеваниями согласно базе данных DisGeNET (GDScore \geq 0.3).

Жирным шрифтом выделены заболевания, относящиеся к группам патологии, являющимся факторами риска тяжелой формы COVID-19. АФК – активные формы кислорода.

стует дифференцировке наивных Т-клеток в классические эффекторные Т-клетки, подавляет экспрессию цитотоксических факторов и развитие NK-клеток (Deng et al., 2024). Предполагается также, что TGF-β является ключевым цитокином, регулирующим хроническую иммунную реакцию при тяжелом течении COVID-19 (Ferreira-Gomes et al., 2021).

Благодаря связи *ADAMTS2* с активацией TGF-β пути и формированием внеклеточного матрикса, повышенная экспрессия данного гена при тяжелой форме COVID-19 может отражать иммунопатологические процессы, характерные для прогрессирования заболевания и развития фиброза легких.

Таким образом, были рассмотрены предполагаемые механизмы, посредством которых выявленные гены участвуют в патогенезе тяжелой степени COVID-19. Они отражены в общей схеме (рис. 3), включающей также наиболее значимые ассоциации этих генов с заболеваниями по базе данных DisGeNET. Снижение экспрессии *PPARG* может

привести к низкой экспрессии *PPARG*, что влечет за собой усиление провоспалительных реакций; повышение экспрессии *CD177* приводит к дегрануляции нейтрофилов и высвобождению активных форм кислорода – развивается характерное для тяжелой формы гипервоспаление. Вовлечение в патогенез нейтрофилов возможно и через повышенную экспрессию *PCOLCE2* как фактора, также стимулирующего выработку активных форм кислорода. В развитии фиброза легочной ткани как осложнения тяжелой пневмонии могут быть вовлечены *PCOLCE2* и *ADAMTS2* через различные пути организации внеклеточного матрикса посредством активации синтеза коллагена и TGF-β пути. Изменение в экспрессии *ADAMTS2* тоже может привести к нарушению регуляции TGF-β и, таким образом, вызвать супрессию как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Примечательно, что по DisGeNET данные гены связаны с заболеваниями, определенными как факторы риска тяжелой формы COVID-19 (Профилактика... COVID-19, 2023): сахарным диабетом 2-го типа и

его осложнениями (*PPARG*, *SLC51A*), ожирением (*PPARG*), онкологическими заболеваниями (*CD177*, *ADAMTS2*) и хроническими заболеваниями печени (*SLC51A*).

Не все механизмы, посредством которых умеренная форма COVID-19 может перейти в тяжелую, достаточно изучены, и более полную роль данных генов в патогенезе тяжелых проявлений еще предстоит выяснить. Кроме того, различия в направленности их экспрессии, наблюдаемые в разных исследованиях, возможно, предполагают иные закономерности. Сигнальные пути, в которые вовлечены изученные гены, могут раскрыть патогенез тяжелой степени коронавирусной инфекции с другой стороны, учитывая функциональные взаимосвязи генов.

Анализ функционального обогащения общих дифференциально экспрессирующихся генов, ассоциированных с тяжестью COVID-19

В каждом из рассмотренных исследований для ДЭГ, полученных при сравнении тяжелой и средней форм коронавирусной инфекции, также проведен анализ функционального обогащения. Установлено, что значимые сигнальные пути, ассоциированные с гиперэкспрессией генов, связаны с воспалительным иммунным ответом организма. Например, процессы дегрануляции и активации нейтрофилов. Пути лимфоцитарного иммунного ответа были обогащены как гиперэкспрессирующимися, так и гипоекспрессирующимися генами. Выявлены значительные обогащения в путях, связанных с Т-хелперами 2-го типа, участвующими в гуморальном иммунном ответе (Jackson et al., 2022), и в процессах, связанных с активацией, пролиферацией и регуляцией лимфоцитов (Tang et al., 2020). Наряду с этим, процессы, обогащенные генами с пониженной экспрессией, не пересекались. Таким образом, возникают вопросы о механизмах нарушения взаимодействия врожденного и адаптивного иммунных ответов и перехода от «вирусной» реакции при нетяжелой форме COVID-19 к тяжелому воспалительному процессу (Jackson et al., 2022).

Поскольку при сравнении тяжелой и средней форм коронавирусной инфекции большинство значимых сигнальных путей в анализируемых исследованиях различны, нами был проведен анализ обогащения для общих дифференциально экспрессирующихся генов, чтобы выявить общие закономерности развития тяжелой формы. Были выбраны четыре работы (Tang et al., 2020; Aschenbrenner et al., 2021; Jackson et al., 2022; Wang Y. et al., 2023), в которых найденные дифференциально экспрессирующиеся гены наиболее пересекались. Они включали 149 ДЭГ: 102 гена с повышенной экспрессией и 47 генов с пониженной экспрессией. Анализ функционального обогащения был выполнен с помощью ресурса WebGestalt (<https://www.webgestalt.org/>), а также Reactome (Fabregat et al., 2017).

Результаты анализа функционального обогащения с помощью Reactome представлены в табл. 2.

Гены, гиперэкспрессирующиеся в группе с тяжелым течением болезни, связаны с дегрануляцией нейтрофилов (R-HSA-6798695) и с биосинтезом коллагена (R-HSA-1474290). Также была выявлена активация путей передачи сигналов интерлейкинов (R-HSA-449147) – IL-18 (R-HSA-9012546), семейства интерлейкинов-1 (R-HSA-446652), включая IL-33 (R-HSA-9014843), IL-4 и IL-13 (R-HSA-6785807). IL-4, основной цитокин иммунного ответа Th2, как и IL-13, преимущественно связан с фиброзным воспалительным ремоделированием (Vaz de Paula et al., 2020; Wang F. et al., 2020). Кроме того, IL-33, сигнальный белок, предупреждающий иммунную систему о повреждении, может играть важную роль на всех стадиях COVID-19 (Zizzo, Cohen, 2020) и тоже может быть связан с развитием фиброза (Учасова и др., 2018). Сообщалось, что передача сигналов IL-18, участвующего в регуляции Th1-, Th2- и Th17-типов иммунного ответа, в легких активирует инфламмосому, связанные с тяжестью заболевания (Filbin et al., 2021; Насонов, Авдеева, 2022).

Гипоекспрессирующиеся гены при тяжелой форме COVID-19 были связаны с адаптивным иммунитетом

Таблица 2. Наиболее значимые пути Reactome при FDR ≤ 0.05

Путь	p-value	FDR
Пути, ассоциированные с гиперэкспрессирующимися генами		
Дегрануляция нейтрофилов (R-HSA-6798695)	7.24e-10	2.83e-07
Передача сигналов интерлейкина-18 (R-HSA-9012546)	1.22e-04	0.024
Образование коллагена (R-HSA-1474290)	2.76e-04	0.035
Передача сигналов с помощью интерлейкинов (R-HSA-449147)	3.86e-04	0.035
Передача сигналов интерлейкина-4 и интерлейкина-13 (R-HSA-6785807)	4.58e-04	0.035
Передача сигналов интерлейкина-33 (R-HSA-9014843)	5.52e-04	0.035
Передача сигналов семейства интерлейкинов-1 (R-HSA-446652)	6.45e-04	0.035
Пути, ассоциированные с гипоекспрессирующимися генами		
Иммунорегуляторные взаимодействия между лимфоидной и нелимфоидной тканью (R-HSA-198933)	1.22e-07	2.53e-05
Экспрессия TGFBR3 (R-HSA-9839394)	1.56e-04	0.016
Адаптивная иммунная система (R-HSA-1280218)	7.70e-04	0.041
Передача сигналов TGFBR3 (R-HSA-9839373)	7.83e-04	0.041

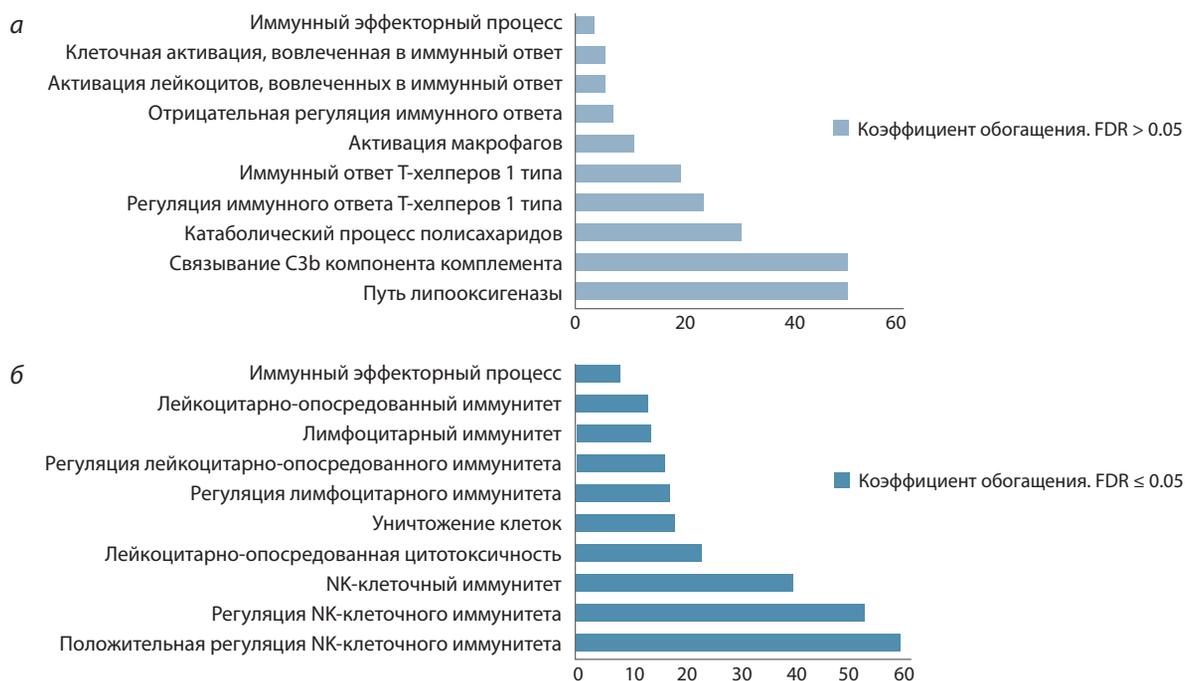


Рис. 4. Пути Gene Ontology, обогащенные гиперэкспрессирующимися (а) и гипоекспрессирующимися (б) генами.

(R-HSA-1280218), с экспрессией (R-HSA-9839394) и передачей сигналов TGFBR3 (R-HSA-9839373) – рецептора TGF-β III типа, ингибирующего передачу сигналов TGF-β (Ahn et al., 2010; Chu et al., 2011). Роль данного пути была рассмотрена при характеристике общего гена *ADAMTS2*.

Таким образом, анализ путей, выявленных в отдельных исследованиях, и анализ путей, ассоциированных с общими генами, при переходе в тяжелую форму выявляют дисбалансирующие изменения в иммунном ответе, характеризующиеся активацией путей дегрануляции нейтрофилов, сигналов провоспалительных (IL-1β, IL-18) и противовоспалительных (IL-4/13) цитокинов, а также подавлением адаптивного иммунного ответа, что может быть ключевым фактором, влияющим на тяжесть течения COVID-19.

При этом результаты анализа Gene Ontology (рис. 4) включали значимые сигнальные пути, ассоциированные с гипоекспрессирующимися генами, которые относятся к функциональным категориям иммунитета, опосредованного NK-клетками (GO:0002228), лимфоцитами (GO:0002449), и лейкоцитарно-опосредованной цитотоксичности (GO:0001909). Данные наблюдения отмечают важное участие иммунных клеток в ответе на SARS-CoV-2.

Дизайн исследований

При установлении причин вариации и низкой репликации генов и сигнальных путей было проведено сравнение дизайнов исследований: характеристик когорт пациентов, платформ секвенирования РНК, а также методов статистической обработки данных. Далее по тексту работам (Tang et al., 2020; Aschenbrenner et al., 2021; Jackson et al., 2022; Wang Y. et al., 2023; Armignacco et al., 2024) будут соответствовать номера 1, 2, 3, 4 и 5.

Инструменты анализа. Для получения дифференциально экспрессирующихся генов использовались разные программные пакеты среды R: DESeq2 (Love et al., 2014), edgeR (Robinson et al., 2010) и limma (Ritchie et al., 2015). Значимым считалось скорректированное значение *p* менее 0.05. Порог логарифмического изменения log2FC по модулю составлял ≥1 в анализе (1) и >1.5 в анализах (4, 5).

Степени тяжести COVID-19. При включении пациентов в анализируемые выборки соблюдались некоторые общие критерии: возраст 18 лет и старше; положительный результат теста ОТ-ПЦР на SARS-CoV-2 в респираторных образцах (мазок из носа/глотки/мокроты/бронхоальвеолярного лаважа) и/или серологического теста (5) и/или установление диагноза COVID-19 на основании наличия типичных клинических симптомов и результатов КТ (2, 5). Пациенты были классифицированы как имеющие легкую, среднюю или тяжелую форму заболевания. Классификация тяжести COVID-19 в четырех работах была основана на рекомендациях Всемирной организации здравоохранения, однако границы тяжести для формирования групп были различны. Легкая степень соответствовала оценке ВОЗ 1–2 в исследовании (3) и оценке ВОЗ 1–4 в (2, 4). Средняя (умеренная) степень соответствовала уровню ВОЗ 3–4 в (3) и уровню ВОЗ 5 в (4). Тяжелая степень COVID-19 соответствовала уровням тяжести ВОЗ 5–7 в (2), ВОЗ 5–8 в (3) и ВОЗ 6–9 в (4). Шкала ВОЗ по установлению степени тяжести приведена в (3). В исследовании (5) степень тяжести пациентов определялась по течению развивающейся пневмонии. Состояние пациентов классифицировалось как легкая, средняя или тяжелая пневмония в зависимости от начала и развития осложнений COVID-19, включая продолжительность госпитализации, потребность в подаче кислорода, искусственной вентиляции легких или

экстракорпоральной оксигенации. В связи с вариацией формирования групп сравнения анализ ДЭГ проводился с включением групп, которые относились к легкой форме заболевания.

Сбор материала. Общий для всех работ период сбора материала составлял год, с февраля 2020 г. по февраль 2021 г. За данный период циркулировали такие варианты SARS-CoV-2, как Beta, Alpha, Delta, Gamma и др. (<https://www.who.int/ru/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>). Предполагается, что вариант вируса может влиять на тяжесть течения заболевания. Были проведены транскриптомные исследования при выявлении различий в реакции организма-хозяина на инфекции с разными вариантами SARS-CoV-2: «пре-VOC» и «VOC» (варианты, вызывающие обеспокоенность). Инфекция при «пре-VOC» характеризовалась умеренными проявлениями и сохранялась намного дольше, чем инфекция во время циркуляции VOC. Инфекция Delta была тяжелой, что приводило к высоким показателям госпитализации и смертности (Hughes et al., 2023; Maurya et al., 2023). Этот вариант вируса способен к усиленной репликации из-за устойчивого подавления врожденного иммунного ответа организма-хозяина, что потенциально способствует тяжелым симптомам и длительному выздоровлению (Laine et al., 2022). Несмотря на выявление дифференцированных транскриптомных ответов, данные по влиянию на тяжесть течения определенного варианта SARS-CoV-2 все же остаются противоречивыми. В некоторых исследованиях на уровне значимости 0.05 не было обнаружено связи между вирусными линиями и тяжестью заболевания на ранней стадии пандемии (Parikh et al., 2022).

Образцы крови пациентов собирались в разные временные периоды: в течение первых 24 часов с момента госпитализации (2, 5) или через 5–7 дней после поступления в стационар (3). Кроме того, кровь собиралась не только в условиях стационара. Например, в работе (3) собирали образцы крови от пациентов с легкой степенью на дому. Сбор крови для дальнейшего выделения РНК проводили в пробирки PAXgene™ и после необходимых манипуляций хранили при температуре –80 °С, при этом в исследовании (1) тип пробирки не раскрывался. Важно отметить, что при сравнении профилей экспрессии генов клеток крови, собранной в разные виды пробирок для выделения РНК, наблюдается неполная сходимость результатов (Menke et al., 2012).

Критерии формирования выборки пациентов. Критерием исключения пациентов для всех исследований была выявленная коинфекция (например, вирус иммунодефицита человека). Также в работе (2) были исключены пациенты с нейтропенией, гематологическими злокачественными новообразованиями и/или с активной химиотерапией, трансплантацией солидных органов, аутоиммунными заболеваниями и любым предшествующим приемом иммунодепрессантов (кортикостероидов, антицитокиновых биологических препаратов и модификаторов биологического ответа), в то время как в анализе (3) иммуномодулирующее лечение учитывалось как ковариационный фактор.

При сравнении сформированных групп не было выявлено статистически значимых различий по полу (1, 2, 4, 5) и возрасту (1, 2, 4). Однако в работе (3) показана зависимость между степенью тяжести и полом/возрастом. Различна и популяционная принадлежность пациентов – Восточная Азия, Австралия и Европа.

Сопутствующая патология. При анализе учитывался и такой важный фактор для прогрессирования тяжести COVID-19, как сопутствующие заболевания. В работе (2) для каждой из групп сравнения рассчитывался индекс коморбидности Charlson (Charlson et al., 1987). По данному индексу не выявлено статистически значимых различий между группами легкой, средней и тяжелой степени тяжести. В исследовании (3) частота эндокринных сопутствующих заболеваний, курения и ожирения была самой высокой в группе с тяжелой формой заболевания: 70, 50 и 50 % соответственно по сравнению с 53,8, 15,4 и 46,2 % пациентов со средней формой и 21, 5,3 и 5,3 % с легкой формой COVID-19. Значимые различия между пациентами разной степени тяжести среди сопутствующих заболеваний в (5) были выявлены только по сахарному диабету (скорректированное $p = 0.048$).

Таким образом, несмотря на соответствие критериям отбора, обнаружены заметные различия в особенностях групп сравнения, а также инструментах выполнения анализа, что может объяснять наблюдаемую вариацию результатов выбранных исследований. Другим немаловажным фактором, влияющим на вариабельность результатов, является клеточная гетерогенность рассматриваемых образцов. Изучить вклад клеточной гетерогенности и более подробно рассмотреть состав и функциональную характеристику клеток возможно с помощью подхода секвенирования РНК единичных клеток (single-cell RNA-seq).

Секвенирование РНК отдельных клеток в исследовании тяжелой формы COVID-19

На сегодняшний день проведен ряд исследований с использованием технологии single-cell RNA-seq для изучения иммунного клеточного ландшафта пациентов с COVID-19. В табл. S1 Приложения¹ представлены особенности экспрессии генов и клеточного состава при сравнении тяжелой и умеренной формы COVID-19. По результатам scRNA-seq клеток крови тяжелая форма характеризуется определенными изменениями в составе иммунных клеток: наблюдалось снижение плазматоцитидных дендритных клеток, NK-клеток, неклассических моноцитов и увеличение доли классических моноцитов, зрелых нейтрофилов и незрелых субпопуляций моноцитов и нейтрофилов. При тяжелой форме COVID-19 были обнаружены нейтрофилы низкой плотности (LDN), возникающие в условиях экстренного миелопоэза и связанные с дисфункциональными иммунными реакциями (Schultze et al., 2019), чего не наблюдалось при легкой форме. LDN, как и зрелые нейтрофилы, выделяли высокие уровни аларминов S100A8 и S100A9 (Schulte-Schrepping et al., 2020; Silvin et al., 2020; Ren et al., 2021; Wilk et al., 2021). Алармины высвобож-

¹ Табл. S1 Приложения см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx7.pdf>

даются в условиях воспаления и образуют стабильный гетеродимер, известный как кальпротектин (Wang S. et al., 2018), который участвует в активации и хемотаксисе нейтрофилов (Ruskmann et al., 2003), а также предположительно является причиной синдрома высвобождения цитокинов (Silvin et al., 2020). Однако при тяжелой форме установлена разнонаправленная экспрессия генов некоторых провоспалительных (*IL1B*, *TNF*) и противовоспалительных (*IFNG*) цитокинов при общей повышенной выработке провоспалительных цитокинов иммунными клетками.

Различия в составе и функциональной активности Т-клеток при разной степени тяжести и на разных стадиях COVID-19 могут указывать на сложность Т-клеточных реакций в ответ на инфекцию (Ren et al., 2021). При этом каждый тип клеток, вовлеченных в ответ на коронавирусную инфекцию, отличается специфическим паттерном экспрессии генов и мембранных белков, что отражает сложную патофизиологию тяжелых симптомов COVID-19. Основные различия обнаружены в ответе клеток на интерферон I типа и в экспрессии интерферон-стимулируемых генов (*ISG15* и *IFITM1/2*). Такие наблюдения можно объяснить временными изменениями на разных стадиях прогрессирования заболевания. При тяжелой форме наблюдается временной сдвиг: от ранней, но кратковременной реакции на интерферон I типа к провоспалительной реакции на более поздних стадиях (Arunachalam et al., 2020), поэтому важно учитывать и момент времени взятия материала пациентов при анализе – день от начала заболевания. Однако не во всех работах конкретизируются типы клеток при анализе экспрессии генов, что тоже усложняет выявление общих изменений при тяжелой форме COVID-19.

В нескольких исследованиях наблюдались и общие патофизиологические пути развития тяжелой формы, отражающие явление дисрегуляции иммунного ответа. Например, отмечается нарушение презентации моноцитами антигенов главного комплекса гистосовместимости класса II Т-клеткам (*HLA-DR*), что указывает на развитие иммуносупрессии (Зурочка и др., 2008). Кроме того, установлен активированный путь NF-κB – транскрипционного фактора, способствующего развитию «цитокинового шторма» и окислительного стресса посредством усиления синтеза провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода (АФК) активированными макрофагами и нейтрофилами (Болевич С.Б., Болевич С.С., 2020; Kesika et al., 2024). Оксидативный стресс, возникающий в результате повышенного образования АФК и снижения антиоксидантной защиты, способствует патогенезу тяжелой формы COVID-19, приводит к повреждению клеток и тканей через прямое повреждение, перекисное окисление липидов и окисление белков. Окислительный стресс в сочетании с высвобождением цитокинов вызывает дисфункцию эндотелиальных клеток и активирует каскад свертывания крови, провоцируя микрососудистый тромбоз. Провоспалительные цитокины дополнительно стимулируют синтез АФК, усугубляя ОРДС и повреждение легочной ткани и формируя порочный круг между окислительным стрессом и цитокиновым штормом (Polonikov, 2020; Gadotti et al., 2021; Alam, Czajkowsky, 2022; Labarrere, Kassab, 2022).

Анализ транскриптомных данных также подтверждает значение нарушения окислительно-восстановительного баланса в патогенезе тяжелого течения COVID-19. Авторы работы (Saheb Sharif-Askari et al., 2021) провели анализ *in silico* общедоступных данных пациентов с COVID-19 для оценки уровней экспрессии 125 генов, связанных с окислительным стрессом, и обнаружили семь генов (*MPO*, *SI00A8*, *SI00A9*, *SRXN1*, *GCLM*, *SESN2* и *TXN*), имевших повышенную экспрессию в цельной крови и аутопсиях легких пациентов с тяжелой формой COVID-19 по сравнению с пациентами с нетяжелой формой. В исследовании (Tavassolifar et al., 2023) в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с COVID-19 выявлены повышение уровня внутриклеточных АФК, снижение уровня антиоксиданта глутатиона, а также гиперэкспрессия генов оксидантов и антиоксидантов (*CAT*, *NFE2L2*, *SOD1*, *SOD2* и *CYBB*).

Общность исследований bulk и single-cell RNA-seq

Некоторые закономерности, выявленные при анализе транскриптомов пула клеток крови пациентов с умеренной и тяжелой формами COVID-19, были установлены и при применении транскриптомики единичных клеток.

Увеличение доли циркулирующих нейтрофилов, их гиперактивация и дисрегуляция, появление незрелых или развивающихся нейтрофилов, связанных с тяжестью COVID-19, обнаружены в нескольких исследованиях с применением scRNA-seq подхода. Анализ выявил гиперэкспрессию генов, кодирующих провоспалительные цитокины, связанные с фагоцитозом и дегрануляцией, а также генов (например, *PADI4*, *MPO*, *ELANE* и *PRTN3*), которые участвуют в образовании нейтрофильных внеклеточных ловушек (Barnes et al., 2020; Schulte-Schrepping et al., 2020; Silvin et al., 2020; Wilk et al., 2021). Избыточное высвобождение NET из нейтрофилов способствует развитию окислительного стресса, гиперкоагуляции, нарушению альвеолярной микроциркуляции и повреждению легочной ткани. Уровни компонентов нейтрофильных внеклеточных ловушек – например, РНК *DEFB1* и активность эластазы нейтрофилов (*ELANE*) в крови – рассматриваются как потенциальные биомаркеры тяжелой формы COVID-19 (Wargodsky et al., 2022).

У зрелых активированных нейтрофилов при тяжелой форме COVID-19 обнаружена повышенная экспрессия гена *CD177*, возможная роль которого в патогенезе ранее обсуждалась, и генов *CD274* и *ARG1* (Schulte-Schrepping et al., 2020; Wilk et al., 2021), входящих в состав 149 общих ДЭГ. *CD274* (PD-L1) и *ARG1* связаны с подавлением активации Т-клеток, что позволяет предположить, что нейтрофилы могут выполнять иммуносупрессивные функции при тяжелом течении COVID-19 (Schulte-Schrepping et al., 2020). Эти наблюдения согласуются с подавлением общих путей лимфоцитарного иммунитета.

Обогащение путей сигналов интерлейкинов как с противовоспалительными, так и с провоспалительными функциями обнаружено при анализах bulk и single-cell RNA-seq. Предполагается, что повышение уровня провоспалительных цитокинов играет важную роль в тяжелом прогресс-

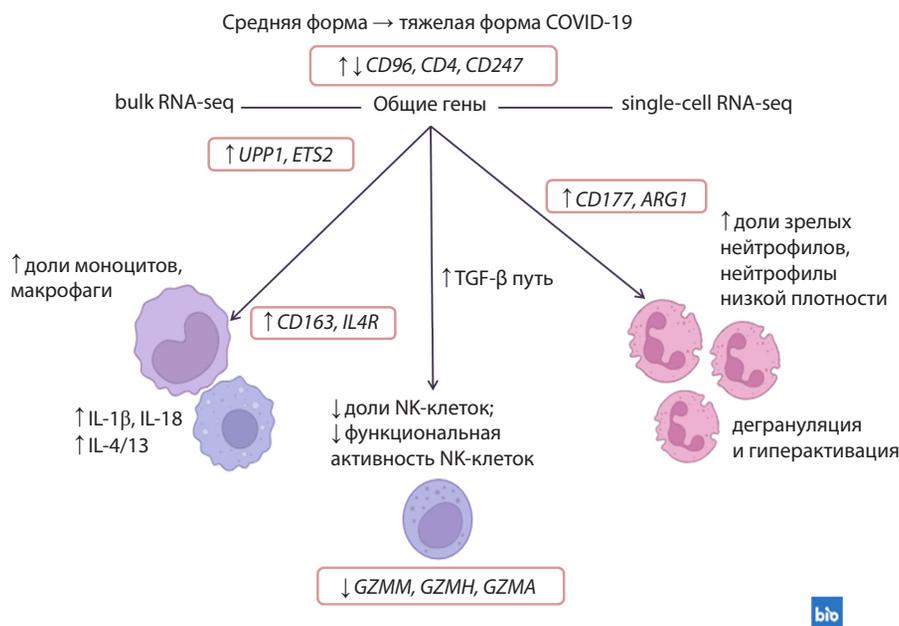


Рис. 5. Общие дифференциально экспрессирующиеся гены и общие закономерности, выявленные при сравнении средней и тяжелой форм COVID-19 при bulk и single-cell подходах к секвенированию РНК крови.

↑ – увеличение доли или экспрессии; ↓ – снижение доли или экспрессии; ↑ ↓ – разнонаправленная экспрессия. Сделано с помощью <https://BioRender.com>.

сировании COVID-19, вызывая гипервоспалительную реакцию, называемую цитокиновым штормом (Ершов и др., 2020; Guo et al., 2020). Реакция IFN-I может способствовать развитию гипервоспалительного ответа, вызванного IL-1β, при тяжелом прогрессировании COVID-19 (Lee J.S. et al., 2020). Генетическая сигнатура сигнальных путей IL-4/13 и IL-18 в моноцитах значительно увеличивалась при тяжелой форме (Lee J.S. et al., 2020; Liu C. et al., 2021; Jeong et al., 2023).

Естественные киллерные (NK) клетки играют важную роль в реакциях врожденного иммунитета на вирусные инфекции. Снижение функциональной активности NK-клеток связано с острой и хронической вирусной инфекцией (Абакушина и др., 2012). При анализе результатов секвенирования РНК единичных клеток выявлены различия в транскриптоме NK-клеток между группами пациентов с умеренной и тяжелой степенью тяжести COVID-19. Например, обнаружена значительная транскрипционная перестройка, вызванная повышением экспрессии канонических генов активации NK-клеток при тяжелой форме, в том числе повышенная экспрессия генов, кодирующих цитотоксические эффекторные молекулы *GZMB*, *PRF1*, *GZMA*, а также маркер пролиферации *MKI67* (Wilk et al., 2021; Shaymardanov et al., 2022). Однако гены, связанные с цитотоксичностью NK-клеток (*GZMM*, *GZMH*, *GZMA*) были идентифицированы среди общих низкоэкспрессирующихся генов при анализе bulk RNA-seq, и сигнальный путь иммунитета, опосредованного NK-клетками (GO:0002228), был обогащен генами с гипозэкспрессией. Признаки истощения NK-клеток на уровне транскриптома наблюдались у пациентов с тяжелой формой COVID-19 и при применении scRNA-seq (Lee J.S. et al., 2020; Krämer

et al., 2021; Liu C. et al., 2021; Wilk et al., 2021; Witkowski et al., 2021). В работе (Witkowski et al., 2021) NK-клетки демонстрировали дисрегуляцию продукции цитокинов, клеточно-опосредованной цитотоксичности и ответа на вирус, несмотря на высокую экспрессию цитотоксических эффекторных молекул. При этом на транскрипционные сети, отвечающие за активацию NK-клеток, накладывалась доминирующая сигнатура ответа на TGF-β. В исследовании (McClain et al., 2023) дифференциальная экспрессия гена *TGFB1*, кодирующего трансформирующий ростовой фактор бета-1, наблюдалась в моноцитах CD14⁺ и была связана с ухудшением течения COVID-19, а в работе (Rep et al., 2021) повышенная экспрессия *TGFB1* наблюдалась в T-, B-лимфоцитах, NK- и дендритных клетках. Среди основных путей, активирующихся при тяжелой форме в случае Delta штамма коронавируса, был выявлен и путь TGF-β (Shaymardanov et al., 2022). Таким образом, участие TGF-β подтверждается и при анализе транскриптома на уровне единичных клеток. Данные результаты позволяют предположить, что нарушения цитотоксичности NK-клеток, в том числе посредством влияния TGF-β пути, могут быть связаны с механизмами развития тяжелой степени COVID-19 (Su et al., 2020; Lee M.J., Blish, 2023).

Особенности развития тяжелой формы COVID-19 характеризуются многогранной иммунной дисрегуляцией, которая описывается как состояние дисбаланса (Yao et al., 2021). Несмотря на различия в подходах к секвенированию РНК, при сравнении средней и тяжелой форм были идентифицированы общие дифференциально экспрессирующиеся гены и некоторые общие закономерности (рис. 5). Наблюдается нарушение регуляции врожденных (гипервоспалительные реакции, снижение цитотоксично-

сти НК-клеток, активация и дегрануляция нейтрофилов) и адаптивных (угнетение путей лимфоцитарного иммунитета) иммунных реакций. При этом обнаружена также разнонаправленная экспрессия некоторых общих ДЭГ, например *CD96*, *CD4* и *CD247*, экспрессирующихся на разных иммунных клетках и участвующих в иммунном ответе, что согласуется с явлением клеточной гетерогенности. При bulk RNA-seq вклад в общий уровень экспрессии генов может вносить экспрессия генов в клетках, которые содержатся в образцах крови пациентов в разных пропорциях, в то время как при single-cell RNA-seq уровни экспрессии генов получены в отдельных популяциях клеток.

Заключение

Транскриптомика крови является важным инструментом изучения особенностей иммунитета у пациентов с коронавирусной инфекцией. Динамика иммунного ответа организма при инфекционном процессе отражается в изменениях экспрессии генов и может быть изучена у пациентов с развитием тяжелого состояния для выявления путей, ключевых для прогрессирования заболевания. Предполагается, что обнаруженные гены могут служить биомаркерами критического состояния при COVID-19 и возможными терапевтическими мишенями.

Проведен анализ общих, наиболее значимых дифференциально экспрессирующихся генов и путей, полученных в транскриптомных исследованиях COVID-19. Проанализированы работы, соответствующие критериям отбора, включающие массовое параллельное секвенирование РНК клеток цельной крови и сравнение тяжелой и средней степеней тяжести. Рассмотрены возможные молекулярные изменения, вызванные SARS-CoV-2, которые дифференцируют пациентов с развитием тяжелых осложнений COVID-19 от пациентов с умеренным течением болезни. В исследованиях bulk RNA-seq всего было идентифицировано 7605 дифференциально экспрессирующихся генов, при этом выявлено пять общих генов: *CD177*, *PPARG*, *PCOLCE2*, *SLC51A* и *ADAMTS2*. Рассмотрена их возможная роль в патогенезе тяжелой формы COVID-19. Такие патологические процессы, как гипервоспаление, фиброз и дисрегуляция адаптивного и врожденного иммунитета, могут быть одними из возможных механизмов прогрессирования коронавирусной инфекции. Для четырех наиболее близких по дизайну работ были найдены общие пути обогащения по 149 ДЭГ, которые включали активацию процессов дегрануляции нейтрофилов, сигнальных путей интерлейкинов, биосинтеза коллагена и подавление путей адаптивного и НК-клеточного иммунитета.

В данной работе рассматриваются результаты изучения транскриптомов пациентов с разными клиническими формами COVID-19 с использованием single-cell технологии, которые подтверждают предположение об иммунной дисрегуляции, выявленной по результатам bulk RNA-seq у пациентов при развитии тяжелой формы. Тяжелое течение отличается увеличением доли и активности зрелых и развивающихся нейтрофилов, развитием синдрома вы-

свобождения цитокинов, а также нарушением цитотоксичности НК-клеток с вовлечением TGF- β пути.

Исследования в области транскриптомики COVID-19 раскрывают особенности клеточных и молекулярных процессов, которые могут привести к развитию тяжелой формы коронавирусной инфекции. Выявление РНК-биомаркеров у пациентов с COVID-19 может способствовать более эффективному распознаванию пациентов из групп риска, стратификации тяжести заболевания, прогнозированию тяжелого течения и исходов COVID-19. Транскриптомные биомаркеры показывают свою эффективность и в дифференциации пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 и пациентов с другими легочными инфекциями. Кроме того, они играют важную роль в определении направлений эффективного лечения инфекции, в том числе длительной COVID-19. РНК-маркеры могут быть использованы в качестве терапевтических мишеней, а также в оценке ответа на лечение. Данные преимущества подчеркивают потенциал РНК-биомаркеров для клинического применения в диагностике, прогнозировании и разработке персонализированных стратегий лечения и реабилитации пациентов.

Однако, несмотря на высокую чувствительность РНК-биомаркеров, их интеграция в клиническую практику сталкивается со значительными трудностями. Особенности дизайнов исследований нередко затрудняют обобщение результатов и ограничивают возможность идентификации согласованных РНК-биомаркеров тяжести течения COVID-19. Вариабельность данных РНК секвенирования может быть обусловлена и влиянием индивидуальных физиологических различий пациентов и факторов окружающей среды. Результаты могут быть нерепрезентативными для пациентов разных популяций, в том числе из-за популяционной специфичности иммунного ответа (Nédélec et al., 2016; Randolph et al., 2024). Важно учитывать и особенности получения материала в клинических условиях: точное измерение РНК затруднено нестабильностью РНК в крови и сложностью очистки. В перспективе интеграция новых технологий, таких как РНК-секвенирование единичных клеток, проверка эффективности выявленных предикторов в более крупных многоцентровых испытаниях и разработка стандартизированных протоколов исследований помогут преодолеть некоторые ограничения клинического использования РНК-маркеров (Schultze, Aschenbrenner, 2021; Chen et al., 2022; Wargodsky et al., 2022; Eldien et al., 2025; Shimansky et al., 2025). Кроме того, для полного раскрытия сложного патогенеза тяжелой формы COVID-19 важно применить комплексный, «омиксный» подход, который помимо транскриптомики будет включать иные методы изучения особенностей иммунного ответа на SARS-CoV-2: протеомику, метаболомику, эпигенетику, мультиплексные измерения цитокинов/хемокинов и др. На основании результатов применения мультиомиксных технологий может быть обеспечена разработка новых подходов в прогнозировании исходов, профилактике и лечении тяжелого COVID-19.

Список литературы / References

- Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология*. 2012;33(4): 220-224
[Abakushina E.V., Kuzmina E.G., Kovalenko E.I. The main characteristics of human natural killer cells. *Immunologiya = Immunology*. 2012;33(4):220-224 (in Russian)]
- Болевич С.Б., Болевич С.С. Комплексный механизм развития COVID-19. *Сеченовский вестник*. 2020;11(2):50-61. doi 10.47093/2218-7332.2020.11.2.50-61
[Bolevich S.B., Bolevich S.S. Complex mechanism of COVID-19 development. *Sechenov Med J*. 2020;11(2):50-61. doi 10.47093/2218-7332.2020.11.2.50-61 (in Russian)]
- Ершов А.В., Суrowa В.Д., Долгих В.Т., Долгих Т.И. Цитокиновый шторм при новой коронавирусной инфекции и способы его коррекции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2020;65(11-12): 27-37. doi 10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-27-37
[Ershov A.V., Surova V.D., Dolgikh V.T., Dolgikh T.I. Cytokine storm in the novel coronavirus infection and methods of its correction. *Antibiotiki i Khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2020; 65(11-12):27-37. doi 10.37489/0235-2990-2020-65-11-12-27-37 (in Russian)]
- Зурочка А.В., Котляров А.Н., Кувайцев М.В., Квятковская С.В., Зурочка В.А., Рябова Л.В., Хайдуков С.В. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2008; 10(4-5):379-388. doi 10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388
[Zurochka A.V., Kotlyarov A.N., Kuvaytsev M.V., Kvyatkovskaya S.V., Zurochka V.A., Ryabova L.V., Khaidukov S.V. Changes of HLA-DR antigen expression on monocytes in children and their clinical significance in sepsis. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology*. 2008;10(4-5):379-388. doi 10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388 (in Russian)]
- Насонов Е.Л., Авдеева А.С. Интерлейкин 18 при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях и COVID-19. *Научно-практическая ревматология*. 2022;60(2):195-204. doi 10.47360/1995-4484-2022-195-204
[Nasonov E.L., Avdeeva A.S. Interleukin 18 in immune-mediated rheumatic diseases and COVID-19. *Rheumatology Science and Practice*. 2022;60(2):195-204. doi 10.47360/1995-4484-2022-195-204 (in Russian)]
- Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 18. Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023
[Prevention, Diagnosis and Treatment of Novel Coronavirus Infection (COVID-19). Temporary guidelines. Version 18. The Ministry of Health of the Russian Federation, 2023 (in Russian)]
- Учасова Е.Г., Груздева О.В., Дылева Ю.А., Каретникова В.Н. Интерлейкин-33 и фиброз: современный взгляд на патогенез. *Медицинская иммунология*. 2018;20(4):477-484. doi 10.15789/1563-0625-2018-4-477-484
[Uchasova E.G., Gruzdeva O.V., Dileva Yu.A., Karetnikova V.N. Interleukin 33 and fibrosis: pathogenesis updated. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology*. 2018;20(4):477-484. doi 10.15789/1563-0625-2018-4-477-484 (in Russian)]
- Ahn J.Y., Park S., Yun Y.S., Song J.Y. Inhibition of type III TGF- β receptor aggravates lung fibrotic process. *Biomed Pharmacother*. 2010;64(7):472-476. doi 10.1016/j.biopha.2010.01.006
- Alam M.S., Czajkowsky D.M. SARS-CoV-2 infection and oxidative stress: pathophysiological insight into thrombosis and therapeutic opportunities. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2022;63:44-57. doi 10.1016/j.cytogfr.2021.11.001
- Alqutami F., Senok A., Hachim M. COVID-19 transcriptomic atlas: a comprehensive analysis of COVID-19 related transcriptomics datasets. *Front Genet*. 2021;12:755222. doi 10.3389/fgene.2021.755222
- Armignacco R., Carlier N., Jouinot A., Birtolo M.F., de Murat D., Tubach F., Hausfater P., ... Beurton A., Goulet H., Manivet P., Bertherat J., Assié G.; COVIDeF group. Whole blood transcriptome signature predicts severe forms of COVID-19: results from the COVIDeF cohort study. *Funct Integr Genomics*. 2024;24(3):107. doi 10.1007/s10142-024-01359-2
- Arunachalam P.S., Wimmers F., Mok C.K.P., Perera R.A.P.M., Scott M., Hagan T., Sigal N., ... Maecker H.T., Khatri P., Rouphael N., Peiris M., Pulendran B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*. 2020; 369(6508):1210-1220. doi 10.1126/science.abc6261
- Aschenbrenner A.C., Mouktaroudi M., Krämer B., Oestreich M., Antonakos N., Nuesch-Germano M., Gkizeli K., ... Nattermann J., Koutsoukou A., Giamarellos-Bourboulis E.J., Ulas T. German COVID-19 Omics Initiative (DeCOI). Disease severity-specific neutrophil signatures in blood transcriptomes stratify COVID-19 patients. *Genome Med*. 2021;13(1):7. doi 10.1186/s13073-020-00823-5
- Auwul M.R., Rahman M.R., Gov E., Shahjaman M., Moni M.A. Bioinformatics and machine learning approach identifies potential drug targets and pathways in COVID-19. *Brief Bioinform*. 2021;22(5): bbab120. doi 10.1093/bib/bbab120
- Baghela A., An A., Zhang P., Acton E., Gauthier J., Brunet-Ratnasingham E., Blimkie T., Freue G.C., Kaufmann D., Lee A.H.Y., Levesque R.C., Hancock R.E.W. Predicting severity in COVID-19 disease using sepsis blood gene expression signatures. *Sci Rep*. 2023;13(1):1247. doi 10.1038/s41598-023-28259-y
- Bando S.Y., Bertonha F.B., Vieira S.E., de Oliveira D.B.L., Chalup V.N., Durigon E.L., Palmeira P., ... Antonangelo L., Lauterbach G.D.P., Regalio F.A., Cesar R.M., Jr, Moreira-Filho C.A. Blood leukocyte transcriptional modules and differentially expressed genes associated with disease severity and age in COVID-19 patients. *Sci Rep*. 2023; 13(1):898. doi 10.1038/s41598-023-28227-6
- Barnes B.J., Adrover J.M., Baxter-Stoltzfus A., Borczuk A., Cools-Lartigue J., Crawford J.M., Daßler-Plenker J., Guerci P., Huynh C., Knight J.S. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020;217:e20200652. doi 10.1084/jem.20200652
- Berlin D.A., Gulick R.M., Martinez F.J. Severe Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(25):2451-2460. doi 10.1056/NEJMcp2009575
- Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W.C., Uhl S., Hoagland D., Möller R., Jordan T.X., ... Wang T.T., Schwartz R.E., Lim J.K., Albrecht R.A., ten Oever B.R. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-1045.e9. doi 10.1016/j.cell.2020.04.026
- Charlson M.E., Pompei P., Ales K.L., MacKenzie C.R. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis*. 1987;40(5):373-383. doi 10.1016/0021-9681(87)90171-8
- Chaussabel D., Pascual V., Banchereau J. Assessing the human immune system through blood transcriptomics. *BMC Biol*. 2010;8:84. doi 10.1186/1741-7007-8-84
- Che Y., Jiang D., Zhang Y., Zhang J., Xu T., Sun Y., Fan J., ... Ding J., Hu C., Huang Y., Zhang J., Yang K. Elevated ubiquitination contributes to protective immunity against severe SARS-CoV-2 infection. *Clin Transl Med*. 2022;12(12):e1103. doi 10.1002/ctm2.1103
- Chen C.H., Lin S.W., Shen C.F., Hsieh K.S., Cheng C.M. Biomarkers during COVID-19: mechanisms of change and implications for patient outcomes. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(2):509. doi 10.3390/diagnostics12020509
- Chu W., Li X., Li C., Wan L., Shi H., Song X., Liu X., Chen X., Zhang C., Shan H., Lu Y., Yang B. TGF β 3, a potential negative regulator of TGF- β signaling, protects cardiac fibroblasts from hypoxia-induced apoptosis. *J Cell Physiol*. 2011;226(10):2586-2594. doi 10.1002/jcp.22604
- Chua R.L., Lukassen S., Trump S., Hennig B.P., Wendisch D., Pott F., Debnath O., ... Laudi S., Lehmann I., Conrad C., Sander L.E., Eils R. COVID-19 severity correlates with airway epithelium-immune cell

- interactions identified by single-cell analysis. *Nat Biotechnol.* 2020; 38(8):970-979. doi 10.1038/s41587-020-0602-4
- COVID-19 Multi-omics Blood Atlas (COMBAT) Consortium. A blood atlas of COVID-19 defines hallmarks of disease severity and specificity. *Cell.* 2022;185(5):916-938.e58. doi 10.1016/j.cell.2022.01.012
- Delorey T.M., Ziegler C.G.K., Heimberg G., Normand R., Yang Y., Segerstolpe Å., Abbondanza D., ... Li B., Shalek A.K., Villani A.C., Rozenblatt-Rosen O., Regev A. COVID-19 tissue atlases reveal SARS-CoV-2 pathology and cellular targets. *Nature.* 2021;595(7865): 107-113. doi 10.1038/s41586-021-03570-8
- Deng Z., Fan T., Xiao C., Tian H., Zheng Y., Li C., He J. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):61. doi 10.1038/s41392-024-01764-w
- Derakhshani A., Hemmat N., Asadzadeh Z., Ghasemina M., Shadbad M.A., Jadideslam G., Silvestris N., Racanelli V., Baradaran B. Arginase 1 (*Arg1*) as an up-regulated gene in COVID-19 patients: a promising marker in COVID-19 immunopathy. *J Clin Med.* 2021; 10(5):1051. doi 10.3390/jcm10051051
- de Seabra Rodrigues Dias I.R., Cao Z., Kwok H.F. Adamalysins in COVID-19 – potential mechanisms behind exacerbating the disease. *Biomed Pharmacother.* 2022;150:112970. doi 10.1016/j.biopha.2022.112970
- Desterke C., Turhan A.G., Bennaceur-Griscelli A., Griscelli F. PPAR γ cistrome repression during activation of lung monocyte-macrophages in severe COVID-19. *iScience.* 2020;23(10):101611. doi 10.1016/j.isci.2020.101611
- Eldien H.M.S., Almaeen A.H., El Fath A.A., Taha A.E., Ahmed R., Elfadil H., Hetta H.F. Unlocking the potential of RNA sequencing in COVID-19: toward accurate diagnosis and personalized medicine. *Diagnostics (Basel).* 2025;15(2):229. doi 10.3390/diagnostics15020229
- Fabregat A., Sidiropoulos K., Viteri G., Forner O., Marin-Garcia P., Arnau V., D'Eustachio P., Stein L., Hermjakob H. Reactome pathway analysis: a high-performance in-memory approach. *BMC Bioinformatics.* 2017;18(1):142. doi 10.1186/s12859-017-1559-2
- Fang C., Ma Y. Peripheral blood genes crosstalk between COVID-19 and sepsis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):2591. doi 10.3390/ijms24032591
- Ferreira-Gomes M., Kruglov A., Durek P., Heinrich F., Tizian C., Heinz G.A., Pascual-Reguant A., ... Radbruch H., Witkowski M., Melchers F., Radbruch A., Mashreghi M.F. SARS-CoV-2 in severe COVID-19 induces a TGF- β -dominated chronic immune response that does not target itself. *Nat Commun.* 2021;12(1):1961. doi 10.1038/s41467-021-22210-3
- Filbin M.R., Mehta A., Schneider A.M., Kays K.R., Guess J.R., Gentili M., Fenyves B.G., ... Parry B.A., Villani A.C., Sade-Feldman M., Hacohen N., Goldberg M.B. Longitudinal proteomic analysis of severe COVID-19 reveals survival-associated signatures, tissue-specific cell death, and cell-cell interactions. *Cell Rep Med.* 2021;2(5): 100287. doi 10.1016/j.xcrn.2021.100287
- Gadotti A.C., Lipinski A.L., Vasconcellos F.T., Marqueze L.F., Cunha E.B., Campos A.C., Oliveira C.F., Amaral A.N., Baena C.P., Telles J.P., Tuon F.F., Pinho R.A. Susceptibility of the patients infected with Sars-Cov2 to oxidative stress and possible interplay with severity of the disease. *Free Radic Biol Med.* 2021;165:184-190. doi 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.044
- Guo C., Li B., Ma H., Wang X., Cai P., Yu Q., Zhu L., ... Weng J., Wei H., Jin T., Lin J., Qu K. Single-cell analysis of two severe COVID-19 patients reveals a monocyte-associated and tocilizumab-responding cytokine storm. *Nat Commun.* 2020;11(1):3924. doi 10.1038/s41467-020-17834-w
- Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., Corneau A., Boussier J., Smith N., Péré H., ... Fischer A., Duffy D., Rieux-Laucat F., Kernéis S., Terrier B. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science.* 2020;369(6504):718-724. doi 10.1126/science.abc6027
- Hadzega D., Babisova K., Hyblova M., Janostiakova N., Sabaka P., Janega P., Minarik G. Analysis of transcriptomics data from COVID-19 patients: a pilot research. *Folia Microbiol (Praha).* 2024; 69(1):155-164. doi 10.1007/s12223-024-01130-x
- Hasankhani A., Bahrami A., Tavakoli-Far B., Iranshahi S., Ghaemi F., Akbarzadeh M.R., Amin A.H., Abedi Kiasari B., Mohammadzadeh Shabestari A. Corrigendum: the role of peroxisome proliferator-activated receptors in the modulation of hyperinflammation induced by SARS-CoV-2 infection: a perspective for COVID-19 therapy. *Front Immunol.* 2024;15:1422261. doi 10.3389/fimmu.2024.1422261
- Hegenbarth J.C., Lezocco G., De Windt L.J., Stoll M. Perspectives on bulk-tissue RNA sequencing and single-cell RNA sequencing for cardiac transcriptomics. *Front Mol Med.* 2022;2:839338. doi 10.3389/fmmed.2022.839338
- Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., ... Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. doi 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
- Huang W., Wang D., Yao Y.F. Understanding the pathogenesis of infectious diseases by single-cell RNA sequencing. *Microb Cell.* 2021; 8(9):208-222. doi 10.15698/mic2021.09.759
- Hughes T.D., Subramanian A., Chakraborty R., Cotton S.A., Del Pilar Giraldo Herrera M., Huang Y., Lambert N., Pinto M.D., Rahmani A.M., Sierra C.J., Downs C.A. The effect of SARS-CoV-2 variant on respiratory features and mortality. *Sci Rep.* 2023;13(1): 4503. doi 10.1038/s41598-023-31761-y
- Jackson H., Rivero Calle I., Broderick C., Habgood-Coote D., D'Souza G., Nichols S., Vito O., ... Levin M., Martinon-Torres F., Kaforou M.; PERFORM consortium; GEN-COVID (www.gen.covid.eu) study group. Characterisation of the blood RNA host response underpinning severity in COVID-19 patients. *Sci Rep.* 2022; 12(1):12216. doi 10.1038/s41598-022-15547-2
- Jansen J., Reimer K.C., Nagai J.S., Varghese F.S., Overheul G.J., de Beer M., Roverts R., ... COVID Moonshot consortium; van Rij R.P., Costa I.G., Schneider R.K., Smeets B., Kramann R. SARS-CoV-2 infects the human kidney and drives fibrosis in kidney organoids. *Cell Stem Cell.* 2022;29(2):217-231.e8. doi 10.1016/j.stem.2021.12.010
- Jeong K., Kim Y., Jeon J., Kim K. Subtyping of COVID-19 samples based on cell-cell interaction in single cell transcriptomes. *Sci Rep.* 2023;13(1):19629. doi 10.1038/s41598-023-46350-2
- Jovic D., Liang X., Zeng H., Lin L., Xu F., Luo Y. Single-cell RNA sequencing technologies and applications: a brief overview. *Clin Transl Med.* 2022;12(3):e694. doi 10.1002/ctm2.694
- Karu N., Kindt A., van Gammeren A.J., Ermens A.A.M., Harms A.C., Portengen L., Vermeulen R.C.H., Dik W.A., Langerak A.W., van der Velden V.H.J., Hankemeier T. Severe COVID-19 is characterised by perturbations in plasma amines correlated with immune response markers, and linked to inflammation and oxidative stress. *Metabolites.* 2022;12(7):618. doi 10.3390/metabo12070618
- Kesika P., Thangaleela S., Sisubalan N., Radha A., Sivamaruthi B.S., Chaiyasut C. The role of the nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway in SARS-CoV-2 infection. *Pathogens.* 2024;13(2):164. doi 10.3390/pathogens13020164
- Khan A., Mathelier A. Intervene: a tool for intersection and visualization of multiple gene or genomic region sets. *BMC Bioinformatics.* 2017;18(1):287. doi 10.1186/s12859-017-1708-7
- Krämer B., Knoll R., Bonaguro L., ToVinh M., Raabe J., Astaburua-garcía R., Schulte-Schrepping J., ... Sawitzki B.; Deutsche COVID-19 OMICS Initiative (DeCOI); Aschenbrenner A.C., Schultze J.L., Nattermann J. Early IFN- α signatures and persistent dysfunction are distinguishing features of NK cells in severe COVID-19. *Immunity.* 2021;54(11):2650-2669.e14. doi 10.1016/j.immuni.2021.09.002
- Labarrere C.A., Kassab G.S. Glutathione deficiency in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection and its effects upon the host immune response in severe COVID-19 disease. *Front Microbiol.* 2022;13: 979719. doi 10.3389/fmicb.2022.979719
- Laine L., Skön M., Väisänen E., Julkunen I., Österlund P. SARS-CoV-2 variants Alpha, Beta, Delta and Omicron show a slower host cell

- interferon response compared to an early pandemic variant. *Front Immunol.* 2022;13:1016108. doi 10.3389/fimmu.2022.1016108
- Lee H.J., Georgiadou A., Walther M., Nwakanma D., Stewart L.B., Levin M., Otto T.D., Conway D.J., Coin L.J., Cunnington A.J. Integrated pathogen load and dual transcriptome analysis of systemic host-pathogen interactions in severe malaria. *Sci Transl Med.* 2018; 10(447):eaar3619. doi 10.1126/scitranslmed.aar3619
- Lee J.S., Park S., Jeong H.W., Ahn J.Y., Choi S.J., Lee H., Choi B., ... Park S.H., Choi J.Y., Kim S.H., Jung I., Shin E.C. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. *Sci Immunol.* 2020; 5(49):eabd1554. doi 10.1126/sciimmunol.abd1554
- Lee M.J., Blish C.A. Defining the role of natural killer cells in COVID-19. *Nat Immunol.* 2023;24(10):1628-1638. doi 10.1038/s41590-023-01560-8
- Lei H. Hypoxia and activation of neutrophil degranulation-related genes in the peripheral blood of COVID-19 patients. *Viruses.* 2024;16(2): 201. doi 10.3390/v16020201
- Lévy Y., Wiedemann A., Hejblum B.P., Durand M., Lefebvre C., Surénaud M., Lacabaratz C., ... Yazdanpanah Y., Pantaleo G., Hocini H., Thiébaud R.; French COVID cohort study group. CD177, a specific marker of neutrophil activation, is associated with coronavirus disease 2019 severity and death. *iScience.* 2021;24(7):102711. doi 10.1016/j.isci.2021.102711
- Liu C., Martins A.J., Lau W.W., Rachmaninoff N., Chen J., Imberti L., Mostaghimi D., ... COVID Clinicians; Rossi C., Su H.C., Kuhns D.B., Cohen J.I., Notarangelo L.D., Tsang J.S. Time-resolved systems immunology reveals a late juncture linked to fatal COVID-19. *Cell.* 2021;184(7):1836-1857.e22. doi 10.1016/j.cell.2021.02.018
- Liu X., Chen R., Li B., Zhang J., Liu P., Li B., Li F., Zhang W., Lyu X., Hu M. Oxidative stress indexes as biomarkers of the severity in COVID-19 patients. *Int J Med Sci.* 2024;21(15):3034-3045. doi 10.7150/ijms.102879
- Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014; 15(12):550. doi 10.1186/s13059-014-0550-8
- Maurya R., Swaminathan A., Shamim U., Arora S., Mishra P., Raina A., Ravi V., Tarai B., Budhiraja S., Pandey R. Co-evolution of SARS-CoV-2 variants and host immune response trajectories underlie COVID-19 pandemic to epidemic transition. *iScience.* 2023;26(12): 108336. doi 10.1016/j.isci.2023.108336
- McClain M.T., Zhbannikov I., Satterwhite L.L., Henao R., Giroux N.S., Ding S., Burke T.W., Tsalik E.L., Nix C., Balcazar J.P., Petzold E.A., Shen X., Woods C.W. Epigenetic and transcriptional responses in circulating leukocytes are associated with future decompensation during SARS-CoV-2 infection. *iScience.* 2023;27(1):108288. doi 10.1016/j.isci.2023.108288
- Meizlish M.L., Pine A.B., Bishai J.D., Goshua G., Nadelmann E.R., Simonov M., Chang C.H., ... Halene S., Damsky W., van Dijk D., Lee A.I., Chun H.J. A neutrophil activation signature predicts critical illness and mortality in COVID-19. *Blood Adv.* 2021;5(5):1164-1177. doi 10.1182/bloodadvances.2020003568
- Menke A., Rex-Haffner M., Klengel T., Binder E.B., Mehta D. Peripheral blood gene expression: it all boils down to the RNA collection tubes. *BMC Res Notes.* 2012;5:1. doi 10.1186/1756-0500-5-1
- Morselli Gysi D., do Valle Í., Zitnik M., Ameli A., Gan X., Varol O., Ghiassian S.D., Patten J.J., Davey R.A., Loscalzo J., Barabási A.L. Network medicine framework for identifying drug-repurposing opportunities for COVID-19. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021;118(19): e2025581118. doi 10.1073/pnas.2025581118
- Nassir N., Tambi R., Bankapur A., Al Heialy S., Karuvantevida N., Khansaheb H.H., Zehra B., ... Yaseen Hachim M., Casanova J.L., Berdiev B.K., Alsheikh-Ali A., Uddin M. Single-cell transcriptome identifies *FCGR3B* upregulated subtype of alveolar macrophages in patients with critical COVID-19. *iScience.* 2021;24(9):103030. doi 10.1016/j.isci.2021.103030
- Nédélec Y., Sanz J., Baharian G., Szpiech Z.A., Pacis A., Dumaine A., Grenier J.C., ... Hernandez R.D., Pique-Regi R., Tung J., Yotova V., Barreiro L.B. Genetic ancestry and natural selection drive population differences in immune responses to pathogens. *Cell.* 2016; 167(3):657-669.e21. doi 10.1016/j.cell.2016.09.025
- Oh K.K., Adnan M., Cho D.H. Network pharmacology approach to decipher signaling pathways associated with target proteins of NSAIDs against COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11(1):9606. doi 10.1038/s41598-021-88313-5
- Parikh V.N., Ioannidis A.G., Jimenez-Morales D., Gorzynski J.E., De Jong H.N., Liu X., Roque J., ... Palacios J.A., Pinsky B.A., Bustamante C.D., Rivas M.A., Ashley E.A. Deconvoluting complex correlates of COVID-19 severity with a multi-omic pandemic tracking strategy. *Nat Commun.* 2022;13(1):5107. doi 10.1038/s41467-022-32397-8
- Pei R., Feng J., Zhang Y., Sun H., Li L., Yang X., He J., ... Wen K., Zhou H., Chen J., Rong Z., Chen X. Host metabolism dysregulation and cell tropism identification in human airway and alveolar organoids upon SARS-CoV-2 infection. *Protein Cell.* 2021;12(9):717-733. doi 10.1007/s13238-020-00811-w
- Pincemail J., Cavalier E., Charlier C., Cheramy-Bien J.P., Brevers E., Courtois A., Fadeur M., Meziane S., Goff C.L., Misset B., Albert A., Defraigne J.O., Rousseau A.F. Oxidative stress status in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. A pilot study. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(2):257. doi 10.3390/antiox10020257
- Polonikov A. Endogenous deficiency of glutathione as the most likely cause of serious manifestations and death in COVID-19 patients. *ACS Infect Dis.* 2020;6(7):1558-1562. doi 10.1021/acsinfect.0c00288
- Randolph H.E., Aracena K.A., Lin Y.L., Mu Z., Barreiro L.B. Shaping immunity: the influence of natural selection on population immune diversity. *Immunol Rev.* 2024;323(1):227-240. doi 10.1111/immr.13329
- Ren X., Wen W., Fan X., Hou W., Su B., Cai P., Li J., ... Qu K., Wang X., Chen J., Jin R., Zhang Z. COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas. *Cell.* 2021;184(7):1895-1913.e19. doi 10.1016/j.cell.2021.01.053
- Reusch N., De Domenico E., Bonaguro L., Schulte-Schrepping J., Baßler K., Schultze J.L., Aschenbrenner A.C. Neutrophils in COVID-19. *Front Immunol.* 2021;12:652470. doi 10.3389/fimmu.2021.652470
- Ritchie M.E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C.W., Shi W., Smyth G.K. *limma* powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(7):e47. doi 10.1093/nar/gkv007
- Robinson M.D., McCarthy D.J., Smyth G.K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics.* 2010;26(1):139-140. doi 10.1093/bioinformatics/btp616
- Roessler C., de Oliveira K.C.S., de Oliveira Portella A.X., Fortes P.C.N., Machado F.R., Araujo S.M., Prigol M., Lucio L.C., Benvegnú D.M., Ferreto L.E.D. Evaluation of oxidative stress level: reactive oxygen species, reduced glutathione, and D-dimer in patients hospitalized due to COVID-19. *Redox Rep.* 2023;28(1):1-6. doi 10.1080/13510002.2023.2272384
- Ryckman C., Vandal K., Rouleau P., Talbot M., Tessier P.A. Proinflammatory activities of S100: proteins S100A8, S100A9, and S100A8/A9 induce neutrophil chemotaxis and adhesion. *J Immunol.* 2003; 170(6):3233-3242. doi 10.4049/jimmunol.170.6.3233
- Saheb Sharif-Askari N., Saheb Sharif-Askari F., Mdkhana B., Hussain Alsayed H.A., Alsafar H., Alrais Z.F., Hamid Q., Halwani R. Upregulation of oxidative stress gene markers during SARS-COV-2 viral infection. *Free Radic Biol Med.* 2021;172:688-698. doi 10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.018
- Saichi M., Ladjemi M.Z., Korniotis S., Rousseau C., Ait Hamou Z., Massenet-Regad L., Amblard E., Noel F., Marie Y., Bouteiller D., Medvedovic J., Pène F., Soumelis V. Single-cell RNA sequencing of blood antigen-presenting cells in severe COVID-19 reveals multi-process defects in antiviral immunity. *Nat Cell Biol.* 2021;23(5): 538-551. doi 10.1038/s41556-021-00681-2

- Schimke L.F., Marques A.H.C., Baiocchi G.C., de Souza Prado C.A., Fonseca D.L.M., Freire P.P., Rodrigues Praça D., ... Ulas T., Schultze J.L., Nakaya H.I., Jurisica I., Cabral-Marques O. Severe COVID-19 shares a common neutrophil activation signature with other acute inflammatory states. *Cells*. 2022;11(5):847. doi 10.3390/cells11050847
- Schulte-Schrepping J., Reusch N., Paclik D., Baßler K., Schlickeiser S., Zhang B., Krämer B., ... Li Y., Nattermann J., Sawitzki B., Saliba A.E., Sander L.E.; Deutsche COVID-19 OMICS Initiative (DeCOI). Severe COVID-19 is marked by a dysregulated myeloid cell compartment. *Cell*. 2020;182(6):1419-1440.e23. doi 10.1016/j.cell.2020.08.001
- Schultze J.L., Aschenbrenner A.C. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell*. 2021;184(7):1671-1692. doi 10.1016/j.cell.2021.02.029
- Schultze J.L., Mass E., Schlitzer A. Emerging principles in myelopoiesis at homeostasis and during infection and inflammation. *Immunity*. 2019;50(2):288-301. doi 10.1016/j.immuni.2019.01.019
- Shaymardanov A.M., Antonova O.A., Sokol A.D., Deinichenko K.A., Kazakova P.G., Milovanov M.M., Zakubansky A.V., ... Keskinov A.A., Kraevoy S.A., Snigir E.A., Svetlichnyy D.V., Skvortsova V.I. Single-cell gene expression analysis revealed immune cell signatures of Delta COVID-19. *Cells*. 2022;11(19):2950. doi 10.3390/cells11192950
- Shimansky V., Popov O., Kel A., Goryanin I., Klochkova T., Apalko S., Shushentseva N., Anisenkova A., Mosenko S., Shcherbak S. Analysis of the expression profile in COVID-19 patients in the Russian population considering disease severity, mortality, and cytokine storm. *Biomedicines*. 2025;13(4):863. doi 10.3390/biomedicines13040863
- Silvin A., Chapuis N., Dunsmore G., Goubet A.G., Dubuisson A., Derosa L., Almiere C., ... André F., Zitvogel L., Ginhoux F., Fontenay M., Solary E. Elevated calprotectin and abnormal myeloid cell subsets discriminate severe from mild COVID-19. *Cell*. 2020;182(6):1401-1418.e18. doi 10.1016/j.cell.2020.08.002
- Song F., Qian Y., Peng X., Li X., Xing P., Ye D., Lei H. The frontline of immune response in peripheral blood. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182294. doi 10.1371/journal.pone.0182294
- Su Y., Chen D., Yuan D., Lausted C., Choi J., Dai C.L., Voillet V., ... Greenberg P.D., Gottardo R., Davis M.M., Goldman J.D., Heath J.R. Multi-omics resolves a sharp disease-state shift between mild and moderate COVID-19. *Cell*. 2020;183(6):1479-1495.e20. doi 10.1016/j.cell.2020.10.037
- Tabassum T., Rahman A., Araf Y., Ullah M.A., Hosen M.J. Prospective selected biomarkers in COVID-19 diagnosis and treatment. *Biomark Med*. 2021;15(15):1435-1449. doi 10.2217/bmm-2021-0038
- Tang H., Gao Y., Li Z., Miao Y., Huang Z., Liu X., Xie L., Li H., Wen W., Zheng Y., Su W. The noncoding and coding transcriptional landscape of the peripheral immune response in patients with COVID-19. *Clin Transl Med*. 2020;10(6):e200. doi 10.1002/ctm2.200
- Tavassolifar M.J., Aghdaei H.A., Sadatpour O., Maleknia S., Fayazadeh S., Mohebbi S.R., Montazer F., Rabbani A., Zali M.R., Izad M., Meyfour A. New insights into extracellular and intracellular redox status in COVID-19 patients. *Redox Biol*. 2023;59:102563. doi 10.1016/j.redox.2022.102563
- Togami K., Yamaguchi K., Chono S., Tada H. Evaluation of permeability alteration and epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- β_1 in A549, NCI-H441, and Calu-3 cells: development of an *in vitro* model of respiratory epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2017; 86:19-27. doi 10.1016/j.vascn.2017.02.023
- Vaz de Paula C.B., de Azevedo M.L.V., Nagashima S., Martins A.P.C., Malaquias M.A.S., Miggiolaro A.F.R.D.S., da Silva Motta Júnior J., Avelino G., do Carmo L.A.P., Carstens L.B., de Noronha L. IL-4/IL-13 remodeling pathway of COVID-19 lung injury. *Sci Rep*. 2020; 10(1):18689. doi 10.1038/s41598-020-75659-5
- Vlasov I., Panteleeva A., Usenko T., Nikolaev M., Izumchenko A., Gavrilova E., Shlyk I., Miroshnikova V., Shadrina M., Polushin Y., Pchelina S., Slonimsky P. Transcriptomic profiles reveal downregulation of low-density lipoprotein particle receptor pathway activity in patients surviving severe COVID-19. *Cells*. 2021;10(12):3495. doi 10.3390/cells10123495
- Wang F., Xia H., Yao S. Regulatory T cells are a double-edged sword in pulmonary fibrosis. *Int Immunopharmacol*. 2020;84:106443. doi 10.1016/j.intimp.2020.106443
- Wang Q.S., Edahiro R., Namkoong H., Hasegawa T., Shirai Y., Sonehara K., Tanaka H., ... Miyano S., Ogawa S., Kanai T., Fukunaga K., Okada Y. The whole blood transcriptional regulation landscape in 465 COVID-19 infected samples from Japan COVID-19 task force. *Nat Commun*. 2022;13(1):4830. doi 10.1038/s41467-022-32276-2
- Wang S., Song R., Wang Z., Jing Z., Wang S., Ma J. S100A8/A9 in inflammation. *Front Immunol*. 2018;9:1298. doi 10.3389/fimmu.2018.01298
- Wang Y., Schughart K., Pelala T.M., Chew T., Kim K., Karvunidis T., Knippenberg B., ... Burcham J., McLean A.; PREDICT-19 consortium; Tang B., Shojaei M. Blood transcriptome responses in patients correlate with severity of COVID-19 disease. *Front Immunol*. 2023;13:1043219. doi 10.3389/fimmu.2022.1043219
- Wargodsky R., Dela Cruz P., LaFleur J., Yamane D., Kim J.S., Benjenk I., Heinz E., ... Farrar K., Toma I., Jordan T., Goldman J., McCaffrey T.A. RNA sequencing in COVID-19 patients identifies neutrophil activation biomarkers as a promising diagnostic platform for infections. *PLoS One*. 2022;17(1):e0261679. doi 10.1371/journal.pone.0261679
- Wilk A.J., Lee M.J., Wei B., Parks B., Pi R., Martínez-Colón G.J., Ranganath T., ... Holmes S., Rabinovitch M., Rogers A.J., Greenleaf W.J., Blish C.A. Multi-omic profiling reveals widespread dysregulation of innate immunity and hematopoiesis in COVID-19. *J Exp Med*. 2021;218(8):e20210582. doi 10.1084/jem.20210582
- Witkowski M., Tizian C., Ferreira-Gomes M., Niemeyer D., Jones T.C., Heinrich F., Frischbutter S., ... Durek P., Kruglov A., Radbruch A., Mashreghi M.F., Diefenbach A. Untimely TGF β responses in COVID-19 limit antiviral functions of NK cells. *Nature*. 2021; 600(7888):295-301. doi 10.1038/s41586-021-04142-6
- Xiong Y., Liu Y., Cao L., Wang D., Guo M., Jiang A., Guo D., ... Shi M., Liu Y., Zhou Y., Lan K., Chen Y. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):761-770. doi 10.1080/22221751.2020.1747363
- Yao C., Bora S.A., Parimon T., Zaman T., Friedman O.A., Palatinus J.A., Surapaneni N.S., ... Martins G.A., Stripp B.R., Gharib S.A., Goodridge H.S., Chen P. Cell-type-specific immune dysregulation in severely ill COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021;34(1):108590. doi 10.1016/j.celrep.2020.108590
- Yoon H.S., Kim H.Y., Cho K.A., Kim Y.H., Woo S.Y., Kim H.S., Kang J.L., Ryu K.H., Park J.W. Procollagen C-endopeptidase enhancer 2 secreted by tonsil-derived mesenchymal stem cells increases the oxidative burst of promyelocytic HL-60 cells. *Biology (Basel)*. 2022;11(2):255. doi 10.3390/biology11020255
- Zhang J.Y., Wang X.M., Xing X., Xu Z., Zhang C., Song J.W., Fan X., ... Zhang Y., Zumla A., Maeurer M., Bai F., Wang F.S. Single-cell landscape of immunological responses in patients with COVID-19. *Nat Immunol*. 2020;21(9):1107-1118. doi 10.1038/s41590-020-0762-x
- Zhang Y., Wang S., Xia H., Guo J., He K., Huang C., Luo R., Chen Y., Xu K., Gao H., Sheng J., Li L. Identification of monocytes associated with severe COVID-19 in the PBMCs of severely infected patients through single-cell transcriptome sequencing. *Engineering (Beijing)*. 2022;17:161-169. doi 10.1016/j.eng.2021.05.009
- Zizzo G., Cohen P.L. Imperfect storm: is interleukin-33 the Achilles heel of COVID-19? *Lancet Rheumatol*. 2020;2(12):e779-e790. doi 10.1016/S2665-9913(20)30340-4

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.07.2025. После доработки 05.12.2025. Принята к публикации 05.12.2025.