

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-092

Осиков М.В.^{1,2}, Антонов В.Н.^{1,3}, Зотов С.О.^{1,3}, Чулков В.С.⁴

Роль полиморфизма генов *F2*, *F5*, *FGB* и *PAI-1* в изменении гемостаза у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454092, Челябинск, Россия, ул. Воровского д. 64;

²ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», 454048, Челябинск, Россия, ул. Воровского д. 70;

³ГБУЗ «Областная клиническая больница № 3», 454136, Челябинск, Россия, просп. Победы, д. 287;

⁴ФГБОУ ВО «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого», 173003, Великий Новгород, Россия, ул. Большая Санкт-Петербургская, д. 41

Цель работы – исследовать ассоциацию между показателями гемостаза и полиморфизмом генов, обеспечивающих его реализацию у пациентов с COVID-19-ассоциированным повреждением легких в зависимости от тяжести клинического течения.

Методика. В исследовании принимали участие 46 больных COVID-19, которые в зависимости от тяжести поражения легких разделены на 2 группы: с поражением до 50% паренхимы легких ($n = 22$) и с поражением более 50% ($n = 24$). Контрольная группа – практически здоровые люди ($n = 15$), сопоставимые по полу и возрасту. У всех лиц до начала терапии исследовали протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время, тромбиновое время, уровень фибриногена и Д-димера в крови, XII-зависимый фибринолиз и активность антитромбина; методом полимеразной цепной реакции определяли полиморфизмы *rs1799963* гена *F2*, *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB* и *rs1799889* гена *PAI-1*. Анализ полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v. 23.

Результаты. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких при средней и тяжелой степени тяжести заболевания происходит активация коагуляционного гемостаза за счет внешнего и общего пути, замедляется XII-зависимый фибринолиз и снижается активность антитромбина по сравнению со здоровыми лицами, при этом выраженность прокоагулянтных изменений увеличивается в группе больных с тяжелым течением болезни; характерно увеличение частоты встречаемости мутантных аллелей полиморфизма *rs179996* гена *F2* по сравнению с контролем; наблюдается снижение частоты немутантных гомозигот и повышение частоты гетерозигот; частота встречаемости патологических мутаций *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB*, *rs1799889* гена *PAI-1* значимо не меняется; выявлена обратная связь слабой силы между гетерозиготным вариантом GA полиморфизма *rs179996* гена *F2* и протромбиновым временем при заболевании средней степени тяжести, и средней силы при тяжелой степени тяжести, не выявлено значимой связи между показателями гемостаза и полиморфизмами *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB*, *rs1799889* гена *PAI-1*.

Ключевые слова: COVID-19; коагуляционный гемостаз; фибринолиз; полиморфизм; ген *F*; ген *FGB*; ген *PAI-1*

Для цитирования: Осиков М.В., Антонов В.Н., Зотов С.О., Чулков В.С. Роль полиморфизма генов *F2*, *F5*, *FGB* и *PAI-1* в изменении гемостаза у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(2): 33-41.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.33-41

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Осиков М.В., Антонов В.Н.; сбор и обработка материала – Зотов С.О.; статистическая обработка – Чулков В.С., Зотов С.О.; написание текста – Осиков М.В., Зотов С.О., Чулков В.С.; редактирование – Осиков М.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции. Осиков Михаил Владимирович, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.04.2023

Принята к печати 18.05.2023

Опубликована 27.06.2023

Osikov M.V.^{1,2}, Antonov V.N.^{1,3}, Zotov S.O.^{1,3}, Chulkov V.S.¹**Role of F2, F5, FGB, and PAI-1 gene polymorphisms in changes of hemostasis in patients with COVID-19-associated lung injury**¹South Ural State Medical University,

Vorovskogo St. 64, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation;

²Chelyabinsk Regional Clinical Hospital,

Vorovskogo St. 70, Chelyabinsk, 454048, Russian Federation;

³Regional Clinical Hospital № 3,

Prospekt Pobedy 287, Chelyabinsk, 454136, Russian Federation;

⁴Yaroslav-the-Wise Novgorod State University,

Bolshaya St. Petersburg str., 41, Veliky Novgorod, 173003, Russian Federation

The aim of this work was to study the association between hemostasis and related genetic polymorphisms in patients with COVID-19-associated lung injury depending on its severity. **Methods.** The study included 46 patients with COVID-19 divided into two groups based on the severity of lung injury: with injury up to 50% of the lung parenchyma ($n = 22$) and with injury more than 50% ($n = 24$). The control group consisted of sex- and age-matched practically healthy individuals ($n = 15$). Before the start of therapy, all subjects were assessed for prothrombin time, activated partial thromboplastin time, thrombin time, blood concentrations of fibrinogen and D-dimer, XII-dependent fibrinolysis, and antithrombin activity. Polymorphisms *rs1799963* of the *F2* gene, *rs6025* of the *F5* gene, *rs1800790* of the *FGB* gene, and *rs1799889* of the *PAI-1* gene were determined by polymerase chain reaction. Data were analyzed with the IBM SPSS Statistics v. 23 application software package.

Results. In patients with moderate and severe COVID-19-associated lung injury, activation of coagulation hemostasis was observed, which was due to external and common pathways, slower XII-dependent fibrinolysis, and reduced antithrombin activity compared to healthy individuals. Procoagulant changes were significantly more pronounced in the group of patients with severe disease, who had a characteristic increase in the frequency of mutant alleles of the *F2* gene *rs179996* polymorphism compared to the control, decreased frequency of non-mutant homozygotes, and increased frequency of heterozygotes. The frequency of occurrence of pathological mutations *rs6025* in the *F5* gene, *rs1800790* in the *FGB* gene, *rs1799889* in the *PAI-1* gene did not significantly change. A weak inverse correlation was found between the heterozygous GA variant of the *F2* gene *rs179996* polymorphism and the prothrombin time in moderate disease, and a moderately strong inverse correlation in severe disease with more than 50% lung injury. There was no significant correlation between parameters of hemostasis and polymorphisms *rs6025* in the *F5* gene, *rs1800790* in the *FGB* gene, and *rs1799889* in the *PAI-1* gene.

Keywords: COVID-19; coagulation hemostasis; fibrinolysis; polymorphisms; *F2* gene; *F5* gene; *FGB* gene; *PAI-1* gene

For citation: Osikov M.V., Antonov V.N., Zotov S.O., Chulkov V.S. Role of F2, F5, FGB, and PAI-1 gene polymorphisms in changes of hemostasis in patients with COVID-19-associated lung injury. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2023; 67(2): -. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.33-41

Author's contribution: concept and design of the study – Osikov M.V., Antonov V.N.; collection and processing of material – Zotov S.O.; statistical processing – Chulkov V.S., Zotov S.O.; text writing – Osikov M.V., Zotov S.O., Chulkov V.S.; editing – Osikov M.V., Chulkov V.S.

Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Mikhail V. Osikov*, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Information about the authors:Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>Antonov V.N., <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>Chulkov V.S., <https://orcid.org/0000-0002-0952-6856>Zotov S.O., <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>

Received 06.04.2023

Accepted 18.05.2023

Published 27.06.2023

Введение

Распространение COVID-19, начавшееся в китайской провинции Хубэй, было объявлено Всемирной организацией здравоохранения пандемией 11 марта 2020 г. Значимой особенностью COVID-19 являет-

ся непредсказуемый исход заболевания – в одних случаях заболевание протекает без симптомов, в других с тяжелым интоксикационным синдромом, дыхательной недостаточностью или заканчивается летальным исходом [1]. Учитывая резкий рост числа инфицированных людей и ограниченные ресурсы здравоохра-

ния во всем мире во время волн пандемии COVID-19, становится особенно актуальным выявление пациентов, больше всего нуждающихся в интенсивной терапии и госпитализации. Протромботическое состояние характерно для COVID-19, поэтому наиболее информативной может быть оценка факторов коагуляционного гемостаза, фибринолитической системы и антикоагулянтной систем организма [2]. Первоначально считалось, что пневмония и прогрессирующая дыхательная недостаточность являются основными причинами смерти пациентов с COVID-19, однако все больше исследований показывают, что тромбоз, являющийся следствием дисрегуляции гемостаза, на самом деле может быть основной причиной смерти [3]. Частота тромботических осложнений у пациентов с COVID-19 может достигать 31%, особенно у госпитализированных в отделения интенсивной терапии [4]. В настоящее время проводится ряд исследований патофизиологии коагулопатии, специфичной для COVID-19. Повышенный уровень D-димера представляет собой начальное проявление коагулопатии у пациентов в критическом состоянии, за которым следуют снижение протромбинового и активированного частичного тромбопластинового времени [5]. COVID-19 может протекать как с тромбофилическим синдромом, так и без него, часть пациентов чувствительна к антикоагулянтной терапии, другая часть нет [6]. Одним из объяснений может служить генетическая предрасположенность. Для маркеров коагулопатии целесообразно исследовать их молекулярно-генетическую основу и вклад в осложнения, связанные с тромбообразованием при COVID-19 [7]. В настоящее время продолжается активный поиск маркеров генетического детерминирования тяжести течения и исхода COVID-19. Основной массив исследований касается полиморфизмов генов ангиотензин-превращающих ферментов и мембранно-связанной сериновой протеазы (TMPRSS2) [7, 8]. Имеются данные о влиянии на течение COVID-19 полиморфизмов генов молекул адгезии, компонентов системы интерферона, цитокинов и факторов транскрипции, окислительного стресса и метаболических молекул [7, 9]. Определение генетического риска тромботических событий приобрело большое научное и практическое значение, так как тромбовоспалительный синдром является ведущим звеном патогенеза тяжелого течения COVID-19. Однако роль носительства протромбогенных мутаций и полиморфизмов при COVID-19 остается неясной. Публикаций, посвященных этой теме, явно недостаточно. Доказано лишь защитное влияние полиморфизма гена эпокси-редуктазного комплекса витамина

К (VKORC1), ассоциированное с меньшей выраженностью тромбовоспалительного синдрома при COVID-19 [10]. Ряд исследователей рассматривают полиморфизм C677T гена редуктазы метилен-тетрагидрофолиевой кислоты (MTHFR) как причину гипергомоцистеинемии, приводящую к тяжелому острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС) и тромбозу при COVID-19 [11]. Вместе с тем крупные метаанализы (не касающиеся COVID-19) не подтверждают значимой ассоциации между полиморфизмом генов фолатного цикла и риском тромбозов [12]. Кроме генов, регулирующих циркуляцию белков, существует ряд генов регуляции гемостаза, мутации в которых предположительно играют роль в патогенезе коагулопатии при COVID-19. Различия в частотах аллелей и полиморфизмов генов *F2*, *F5*, *FGB* и *PAI-1* могут быть использованы для определения риска тяжести течения COVID-19. **Цель исследования** – исследовать ассоциацию между показателями гемостаза и полиморфизмом генов, обеспечивающих его реализацию у пациентов с COVID-19-ассоциированным повреждением легких в зависимости от тяжести клинического течения.

Методика

В исследовании приняли участие 46 больных с COVID-19, госпитализированных в ГАУЗ ОКБ №3 г. Челябинск (24 женщины и 22 мужчины), в возрасте от 44 до 75 лет, не принимавших препараты, влияющих на коагуляционный гемостаз, исследуемый перед госпитализацией и не родственных между собой. В зависимости от объема поражения легких больные с COVID-19 поделены на группы: группа 2 с поражением до 50% – средняя степень тяжести ($n=22$) и группа 3 с поражением более 50% – тяжелая степень тяжести ($n=24$) [13]. Критериями включения в группы 2 и 3 было наличие COVID-19, подтвержденное обнаружением на слизистых оболочках зева и носовой полости РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции («РеалБест РНК SARS-CoV-2», АО «Вектор Бест», Россия). Критериями исключения являлись наличие ранее выявленных онкологических заболеваний, хронических заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной систем и органов желудочно-кишечного тракта, крайне тяжелое течение сочетанной патологии, требующее госпитализации пациента в ОРИТ, наличие у пациента артериальной гипертензии 2-й степени и выше, индекс массы тела более 30 кг/м^2 , анемия. Всеми пациентами подписано информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол №4 от 24.05.2021). У всех па-

циентов методом мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки («Siemens SOMATOM Definition AS 64») выявлено двустороннее поражение легких, соответствующее патогномичным изменениям при COVID-19: диффузное уплотнение легочной ткани по типу «матового стекла» и консолидации в сочетании с ретикулярными изменениями. В контрольную группу вошли 15 клинически здоровых добровольцев (группа 1), сопоставимых по полу и возрасту с больными COVID-19 и не родственные между собой. Забор крови проводился на 1-е сутки поступления больного в стационар до начала стандартной тромбопрофилактики. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) определялось путем добавления «АЧТВ-тест» (ООО «Технология –Стандарт», Россия), представляющего собой смесь соевых фосфолипидов, эллаговой кислоты, буфера HEPES, стабилизатора и консерванта ProCln 300, к исследуемой плазме крови, затем регистрировалось время образования сгустка. Концентрация фибриногена в крови определялась модифицированным методом Клаусса с использованием тест-системы «МультиТех-Фибриноген» (ООО «Технология –Стандарт», Россия). Протромбиновое время (ПТВ, время образования в плазме фибринового сгустка) измеряли с помощью «Техпластин-тест» (ООО «Технология –Стандарт», Россия) после добавления к плазме хлорида кальция и тромбопластина. Протромбивый индекс рассчитывали как отношение ПТВ контрольной плазмы к ПТВ исследуемой плазмы пациента, выражали в процентах. Концентрацию Д-димера в крови определяли с помощью «Тех-Д-димер-тест» методом аглютинации с латексной суспензией (ООО «Технология –Стандарт», Россия). XII-зависимый фибринолиз и спонтанный фибринолиз определяли с помощью наборов «XIIa-зависимый фибринолиз» и «Фибринолиз-тест» соответственно (ООО «Технология –Стандарт», Россия), выражали значение в минутах. Генетические исследования проводились методом ПЦР в реальном времени («Roche LightCycler 96», «Roche Molecular Systems», США), материал – буккальный соскоб эпителия. Использовали наборы реагентов для выявления полиморфизмов в генах «SNP-экспресс-кардиогенетика» (НПФ «Литех», Россия). Определяли следующие полиморфизмы: *rs6025* гена *F5*, кодирующего свертывающий фактор V (фактор Лейден); *rs1799963* гена *F2* кодирующего свертывающий фактор II (протромбин); *rs1800790* гена *FGB*, кодирующего бета-полипептидную цепь белка фибриногена (фактор I свертывания крови); *rs1799889* гена *PAI-1* кодирующего эндотелиальный ингибитор активатора плазминогена – 1 (ИАП-1), ко-

торый негативно воздействует на фибринолиз. Результаты представляли в виде частоты встречаемости гомозиготного немутантного варианта – GG для полиморфизмов *rs6025*, *rs1799963* и *rs1800790*, 5G5G для *rs1799889*; гетерозиготного варианта – GA для *rs6025*, *rs1799963* и *rs1800790*, 5G4G для *rs1799889*; гомозиготного мутантного варианта – AA для *rs6025*, *rs1799963*, *rs1800790* и 4G4G для *rs1799889*. Статистическая обработка проведена с использованием IBM SPSS Statistics v. 23 («SPSS: An IBM Company»; США), Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q25 – Q75)», где Me – медиана, Q25, Q75 – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев Краскелла–Уолиса, Манна–Уитни. При сравнении долей использовался точный критерий Фишера. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Частота аллелей оценивались по методу подсчета гена, а критерий χ^2 был использован для выявления отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. Для определения уровня корреляции использовался коэффициент Спирмена (R). Отличия считали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$ или с учетом поправки Бонферрони.

Результаты

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести до начала терапии по сравнению с группой контроля выявлено значимое ускорение? укорочение протромбинового времени (на 54% по медиане), показатель АЧТВ в этой группе существенно не меняется, происходит укорочение тромбинового времени (на 29%), увеличение в крови концентрации фибриногена (на 65%), Д-димера (в 13 раз), замедление XII-зависимого фибринолиза на 66%, снижение активности антитромбина на 21% (табл. 1). У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких тяжелой степени тяжести протромбиновое время по сравнению с контролем укорачивается на 46% по медиане по сравнению с контролем, АЧТВ значимо не меняется, тромбиновое время меньше на 42%. Содержание фибриногена в крови больных группы 3 выше на 40% по сравнению с контролем. Уровень Д-димера по сравнению с контролем выше в 13,4 раза, XII-зависимый фибринолиз медленнее на 411% по сравнению с контролем, активность антитромбина снижается по сравнению с контролем на 77%.

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких тяжелой степени тяжести по сравнению с группой больных средней степени тяжести до нача-

ла терапии по медиане протромбиновое время удлиняется на 27%, АЧТВ значимо не меняется, тромбиновое время укорачивается меньше на 19%. Содержание фибриногена в крови больных группы 3 меньше на 19% по сравнению с группой 2. Уровень Д-димера не изменяется, XII-зависимый фибринолиз медленнее на 206%, активность антитромбина снижается на 67% по сравнению с группой 2.

Как видно из **таблицы 2**, в группе пациентов с COVID-19-ассоциированным поражением легких средней степени тяжести статистически значимо чаще встречается генотип GA полиморфизма *rs1799963* гена *F2* и соответственно снижается встречаемость дикого генотипа GG. Аллель А этого полиморфизма также встречается чаще, чем в группе контроля. Частота встречаемости других исследуемых полиморфизмов и аллелей в этой группе не меняется. В группе 3 при анализе полиморфизма *rs1799963* гена *F2* аллель А встречается чаще, чем аллель G по сравнению с контролем; частота встречаемости GG варианта этого полиморфизма – 77,3% наблюдений (ниже, чем в группе контроля), частота гетерозиготного GA варианта – 22,7% наблюдений (выше, чем в группе контроля), вариант AA обнаружен только в одном случае, что

не позволяет судить о частоте встречаемости этого варианта. В группе 3 при анализе распределения частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB*, *rs1799889* гена *PAI-1* не выявлено статистически значимых различий с группой контроля, частота встречаемости мутантных вариантов генотипа не меняется. В группе 3 при анализе распределения частоты аллелей и генотипов исследуемых полиморфных локусов не выявлено статистически значимых различий с группой 2.

При оценке возможной корреляции в группе 2 в зависимости от варианта генотипа полиморфизма *rs1799963* гена *F2* выявлена слабая обратная связь между гетерозиготным вариантом GA и протромбиновым временем ($R=0,48$, $p<0,05$), в группе 3 выявлена обратная связь средней силы между гетерозиготным вариантом GA и протромбиновым временем ($R=0,58$; $p<0,05$).

Обсуждение

Активация гемостаза у больных COVID-19 обусловлена множеством факторов, среди которых повреждение эндотелия, цитокиновый шторм, дисфункция тромбоцитов с их гиперагрегацией,

Таблица 1/Table 1

Показатели гемостаза при COVID-19-ассоциированном поражении легких (Me (Q25–Q75))

Haemostasis parameters in COVID-19-associated lung injury (Me (Q25–Q75))

Показатели Indicators	Группа 1, Здоровые $n = 11$ Group 1, Healthy	Группа 2 Средняя степень тяжести $n = 22$ Group 2, Intermediate lung disease	Группа 3 Тяжелая степень тяжести $n = 24$ Group 3, Severe lung disease
ПВ, сек PT, sec	17,75 (13,20-24,30)	12,25 (10,20-14,75) *	10,30 (9,90-10,90) * #
АЧТВ, сек aPTT, sec	28,20 (27,50-30,10)	28,00 (27,00-31,00)	29,00 (28,00-33,00)
ТВ, сек TT, sec	19,80 (14,20-22,40)	14,10 (8,90-19,30) *	11,40 (7,60-16,50) **
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/l	2,85 (2,55-3,10)	4,70 (4,50-5,40) *	3,95 (3,10-4,80) * #
Д-димер, мг/л D-dimer, mg/l	0,08 (0,04-0,11)	1,10 (0,89-1,83) *	1,15 (0,93-1,85) *
Фибринолиз XII-зависимый, минуты Fibrinolysis XII-dependent, minutes	9,00 (8,00-10,00)	15,00 (9,50-23,50) *	46,00 (25,00-62,00) * #
Активность антитромбина, % Antithrombin activity, %	90,50 (84,50-99,00)	62,47 (41,06-74,09) *	31,44 (23,17-43,61) * #

Примечание. * – статистически значимые различия ($p<0,05$) с группой 1; # – с группой 2; n – количество людей в группе; ПВ – протромбиновое время; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ТВ – тромбиновое время.

Note. * – statistically significant differences ($p<0.05$) with group 1; # – with group 2; PT – prothrombin time; aPTT – activated partial thromboplastin time; TT – thrombin time.

Таблица 2/Table 2

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов при анализе полиморфизмов генов *F2*, *F5*, *FGB* и *PAI-1* при COVID-19-ассоциированном поражении легких (Me (Q25–Q75))

Comparative analysis of allele and genotype frequencies in *F2*, *F5*, *FGB* and *PAI-1* gene polymorphisms in COVID-19-associated lung disease (Me (Q25–Q75))

Полиморфизм Polymorphism	Генотипы/ аллели Genotypes/ alleles		Частота генотипа							
			Группа 1 (n=15) Group 1	Группа 2 (n=22) Group 2	χ^2 (p) с группой 1 to group 1	ОШ (95% ДИ) OR (95% CI)	Группа 3 (n=24) Group 3	χ^2 (p) с группой 1 to group 1	χ^2 (p) с группой 2 to group 2	ОШ (95% ДИ) OR (95% CI)
			n	n			n			
<i>rs1799963</i> гена <i>F2</i>	Генотипы Genotypes	GG	15 (100%)	17 (82,7%)	3,942 (0,048)	1	16 (65,8%)	4,753 (0,030)	0,378 (0,539)	1
		GA	0	5 (17,3%)	3,942 (0,048)	4,412 (0,462- 42,133)	7 (30,0%)	4,010 (0,046)	0,247(0,620)	4,529 (0,488- 42,054)
		AA	0	0	-		1 (4,2%)	0,472 (0,493)	0,937 (0,334)	0,478 (0,027-8,380)
	Аллели Alleles	A	0%	10,4%	7,884 (0,005)	22,018 (0,253- 20,798)	18,8%	6,359 (0,012)	1,434 (0,232)	5,077 (5,077- 42,768)
<i>rs6025</i> гена <i>F5</i>	Генотипы Genotypes	GG	15 (100%)	29 (100%)	нет no	1	24 (100%)	нет		1
		GA	0	0			0			
		AA	0	0			0			
	Аллели Alleles	A	0%	0			0			
<i>rs1800790</i> гена <i>FGB</i>	Генотипы Genotypes	GG	9 (72,7%)	12 (55,2%)	1,024 (0,312)	1	15 (62,5%)	0,350 (0,555)	0,290 (0,590)	1
		GA	4 (27,3%)	8 (34,5%)	0,189 (0,664)	1,404 (0,303- 6,495)	8 (33,3%)	0,129 (0,720)	0,008 (0,930)	5,500 (0,600- 50,444)
		AA	0	2 (10,3%)	1,714 (0,191)	1,269 (1,269- 13,584)	1 (4,2%)	0,472 (0,472)	0,718 (0,397)	0,478 (0,027-0,027)
	Аллели Alleles	A	14%	33,3%	0,064 (0,801)	2,413 (0,627- 9,279)	20,8%	0,517 (0,473)	0,647 (0,422)	1,667 (0,410- 6,778)
<i>rs1799889</i> гена <i>PAI-1</i>	Генотипы Genotypes	5G5G	11 (81,8%)	15 (71,2%)	1,009 (0,316)	0,422 (0,076- 2,341)	16 (66,7%)	0,848 (0,357)	0,008 (0,930)	0,444 (0,077-2,562)
		5G4G	4 (18,2%)	3 (14,4%)	0,005 (0,945)	0,938 (0,153- 5,728)	5 (20,8%)	0,033 (0,856)	0,111 (0,740)	1,184 (0,192-7,320)
		4G4G	0	4 (14,4%)	2,167 (0,141)	2,292 (0,239- 22,018)	3 (12,5%)	1,504 (0,221)	0,230 (0,632)	1,571 (0,146- 16,943)
	Аллели Alleles	4G	9,1%	21,4%	2,681 (0,102)	3,488 (0,727- 16,732)	22, 9%	1,907 (0,168)	0,123 (0,726)	2,973 (2,973- 14,753)

Примечание. χ^2 (p) – Хи-квадрат Пирсона и уровень значимости p при сравнении групп больных с контрольной группой, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал.

Note. χ^2 (p) – Pearson Chi-square and p significance level when comparing patient groups with controls, OR - odds ratio, CI – confidence interval.

повышение прокоагулянтной и снижение фибринолитической активности плазмы, окислительный стресс, образование антифосфолипидных антител. Несмотря на то что при COVID-19 ассоциированном повреждении легких воспаление и гиперкоагуляция являются ключевыми звеньями патогенеза, механизмы нарушений гемостаза отличаются от тех, которые наблюдаются при диссеминированном внутрисосудистом свертывании (ДВС) и сепсис-индуцированной коагулопатии [14]. В литературе описаны сложные взаимоотношения между циркулирующими иммунными клетками, эндотелием сосудов и множеством растворимых и мембраносвязанных факторов, которые регулируют коагуляцию и врожденный и адаптивный иммунитет, однако в контексте COVID-19 до сих пор отсутствует детальное понимание лежащих в основе молекулярных и клеточных взаимодействий каждой из этих систем [15]. Полученные в ходе представленной работы результаты соотносятся с накопленным за 3 года пандемии данными [16]. Многочисленные исследования зафиксировали повышенную прокоагулянтную и патологическую фибринолитическую активность у пациентов с COVID-19, что приводит к коагулопатии [17]. У госпитализированных пациентов с COVID-19 повышается уровень растворимого тромбомодулина в плазме, образование фибрина и его устойчивость к фибринолизу, что сопоставимо с соответствующими изменениями у больных с сепсисом, а также повышается скорость образования тромбина [18].

Предполагается, что повышенное потребление антитромбина у больных COVID-19 приводит к значительному снижению его активности у пациентов с тяжелым течением COVID-19, особенно в группе погибших [19]. В другом исследовании в плазме пациентов с COVID-19 продемонстрировано замедленное время образования тромбина, плазмина и фибрина [20]. Гиперкоагуляция у этих больных представляет собой сложный и многофакторный процесс. SARS-CoV-2 проникает в клетки через рецептор ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2). Считается, что при присоединении вируса SARS-CoV-2 избыток ангиотензина увеличивает экспрессию *PAI-1*, который ингибирует фибринолиз с помощью эндотелиальных клеток [21]. Сообщалось также о повышенных уровнях тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза и ингибитора протеина С (ингибитора активатора плазминогена-3) [22]. Инфекция SARS-CoV-2 приводит к острому воспалению, что приводит к увеличению уровня брадикинина и *tPA*. Однако повышенных уровней *tPA* недостаточно, чтобы уравновесить высокие уровни

PAI-1, что, вероятно, объясняет нарушение фибринолиза и накопление фибрина в альвеолах легких [23]. Отложения фибрина усиливают воспаление и фиброз и приводят к повреждению сурфактанта легких.

Транскрипционное профилирование бронхо-альвеолярного лаважа у пациентов с COVID-19 продемонстрировало различную экспрессию генов белков свертывания крови и фибринолиза: обнаружен повышенный уровень транскриптов и экспрессии тканевого фактора [24]. SARS-CoV-2 активирует гены, кодирующие факторы XI, VII и фон Виллебранда, вместе с подавлением экспрессии генов тромбомодулина и протеина S. Изменения в экспрессии генов урокиназного пути включают повышенную экспрессию генов ингибитора активатора плазминогена 1 (*PAI-1*), тканевый активатор плазминогена (*tPA*) и рецептор активатора урокиназы. Примечательно, что изменения в экспрессии генов в этих исследованиях не всегда были последовательными, что может отражать различия в исследуемой популяции, штамме вируса, тяжести и стадии заболевания и в результате других причин. Более того, трудно предвидеть функциональные последствия этих изменений, особенно учитывая наблюдения, что гены фибринолитического пути с противоположной функцией (например, *PAI-1* и *tPA*) скоординировано регулируются в определенных условиях [25]. Нарушение фибринолиза продемонстрировано у больных COVID-19, в том числе у пациентов в критическом состоянии [23].

Существуют единичные исследования касательно протромбогенных полиморфизмов гена *FII*, где показано что такие мутации (в том числе GA вариант полиморфизма *rs1799963*) являются значимым фактором риска неблагоприятного исхода у пациентов тяжелого и крайне тяжелого течения COVID-19 [26]. Противоречивые данные о влиянии генетических факторов описаны в литературе, однако учитывая количество публикаций и объем изученных популяций этот вопрос требует дальнейших исследований. Полиморфизм *rs1799963* гена *F2* возникает в результате мутаций и комбинативной изменчивости, в результате чего происходит замена гуанина (G) на аденин (A) в позиции 20210 гена *F2*. Изменение касается регуляторного участка, поэтому нарушения структуры протромбина не происходит, но у носителей мутантного аллеля A в крови обнаруживается повышенный уровень протромбина за счет избыточной экспрессии гена. Мутация в гене *F2* наследуется по аутосомно-доминантному типу, поэтому патологический эффект реализуется даже при наличии одной копии поврежденного гена (гетерозиготный генотип GA). Наличие генотипа AA повышает риск венозного тромбоза в 6,7 раз, GA

– в 2,8 раза. Протромбин активируется в тромбин, затем преобразует фибриноген в фибрин при формировании сгустка крови, стимулирует агрегацию клеток и активирует свертывающие факторы F5, F8 и F13A1 [27]. Также тромбин ингибирует коагуляцию, активируя естественный антикоагулянт – протеин С. В совокупности с другими факторами активации гемостаза при COVID-19 это приводит к гиперкоагуляции и как следствие к уменьшению протромбинового времени, что наблюдается в нашем исследовании.

Наблюдаемое отсутствие значимого изменения частоты встречаемости остальных исследованных полиморфизмов, как и их влияния на факторы гемостаза, прежде всего обусловлено относительно небольшим объемом исследованной популяции, этническим составом, но возможно и другое объяснение – действие других прокоагулянтных факторов (воспаление, повреждающее действие вируса, окислительный стресс и др.) при COVID-19 оказывает значительно более выраженное влияние на показатели гемостаза, чем генетическая детерминированность. При таком многофакторном заболевании, как COVID-19, несколько генетических и эпигенетических факторов способны регулировать фенотипическую экспрессию генов, что усложняет возможный анализ корреляции генотип-фенотип.

Выводы:

1. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких при средней и тяжелой степени тяжести заболевания происходит активация коагуляционного гемостаза за счет внешнего и общего пути, замедляется XII-зависимый фибринолиз и снижается активность антитромбина по сравнению со здоровыми лицами, при этом выраженность прокоагулянтных изменений увеличивается в группе больных с тяжелым течением болезни.

2. Для больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких средней и тяжелой степени тяжести характерно увеличение частоты встречаемости мутантных аллелей полиморфизма *rs179996* гена *F2* по сравнению с контролем; наблюдается снижение частоты немутантных гомозигот и повышение частоты гетерозигот; частота встречаемости патологических мутаций *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB*, *rs1799889* гена *PAI-1* значимо не меняется.

3. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких выявлена обратная связь слабой силы между гетерозиготным вариантом GA полиморфизма *rs179996* гена *F2* и протромбиновым временем при заболевании средней степени тяжести, и средней си-

лы при тяжелой степени тяжести. Не выявлено значимой связи между показателями гемостаза и полиморфизмами *rs6025* гена *F5*, *rs1800790* гена *FGB*, *rs1799889* гена *PAI-1*.

Литература

(п.п. 1-11; 14; 15; 17 – 25 см. References)

12. Зотова И.В., Затеищиков Д.А. Наследственная тромбофилия и венозные тромбозомболические осложнения: правила тестирования в клинической практике. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(3S): 4024. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4024
13. *Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). 15 версия от 02.02.2022 [Электронный ресурс]*. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf.
16. Каштанова Е.В., Шахтшнейдер Е.В., Кручинина М.В., Логвиненко И.И., Стрюкова Е.В., Рагино Ю.И. Биохимические, молекулярно-генетические и клинические аспекты COVID-2019. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20(1): 147-57. doi: 10.20538/1682-0363-2021-1-147-157
26. Мойсова Д.Л., Городин В.Н., Скобликов Н.Э., Зотов С.В., Тихоненко Ю.В. Особенности полиморфизма некоторых генов системы гемостаза у больных COVID-19. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2021; Т. 16, 6(96): 35-40.
27. Капуста А.А. Молекулярно-генетические особенности коронавирусной инфекции COVID-19. *Новые импульсы развития: вопросы научных исследований*. 2021; (1): 17-30.

References

1. Feng Y., Ling Y., Bai T., Xie Y., Huang J., et al. COVID-19 with Different Severities: A Multicenter Study of Clinical Features. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Jun 1; 201(11): 1380-8. doi: 10.1164/rccm.202002-0445OC
2. Tuculeanu G., Barbu E.C., Lazar M., Chitu-Tisu, C.E., Moisa, E., Negoita, S.I., et al. Coagulation Disorders in Sepsis and COVID-19—Two Sides of the Same Coin? A Review of Inflammation—Coagulation Crosstalk in Bacterial Sepsis and COVID-19. *J. Clin. Med*. 2023; 12: 601. doi:10.3390/jcm12020601
3. Abou-Ismaïl M.Y., Diamond A., Kapoor S., Arafah Y., Nayak L. The hypercoagulable state in COVID-19: Incidence, pathophysiology, and management. *Thromb Res*. 2020; 194: 101-15. doi: 10.1016/j.thromres.2020.06.029
4. Klok F.A., Kruip M.J.H.A., van der Meer N.J.M., et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020; 191: 145-7. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013
5. Iba T., Levy J.H., Levi M., Connors J.M., Thachil J. Coagulopathy of Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med*. 2020; 48(9): 1358-64. doi: 10.1097/CCM.0000000000004458
6. Baysson H., Pennachio F., Wisniak A., Zaballa M.E., Pullen N., et al. Specchio-COVID19 study group. Specchio-COVID19 cohort study: a longitudinal follow-up of SARS-CoV-2 serosurvey participants in the

- canton of Geneva, Switzerland. *BMJ Open*. 2022; 31; 12(1): e055515. doi: 10.1136/bmjopen-2021-055515
7. Ellinghaus D., Degenhardt F., Bujanda L., et al. Severe COVID-19 GWAS Group. Genomewide association study of severe COVID-19 with respiratory failure. *N Engl J Med*. 2020; 383(16): 1522–34. doi: 10.1056/NEJMoa2020283
 8. Kaidashev I., Shlykova O., Izmailova O., et al. Host gene variability and SARS-CoV-2 infection: A review article. *Heliyon*. 2021; 7(8):e07863. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07863
 9. Taher I., Almaeen A., Ghazy A., et al. Relevance between COVID-19 and host genetics of immune response. *Saudi J Biol Sci*. 2021; 28(11): 6645–52. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.037
 10. Janssen R., Walk J. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) gene polymorphism as determinant of differences in Covid-19-related disease severity. *Med Hypotheses*. 2020; 144: 110218. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110218
 11. Karst M., Hollenhorst J., Achenbach J. Life-threatening course in coronavirus disease 2019 (COVID-19): Is there a link to methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism and hyperhomocysteinemia? *Med Hypotheses*. 2020; 144: 110234. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110234
 12. Zotova I.V., Zateyshchikov D.A. Inherited thrombophilia and venous thromboembolism: testing rules in clinical practice. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*. 2020; 25(3S): 4024. (In Russian). Doi: 10.15829/1560-4071-2020-4024
 13. *Federal clinical guidelines Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19), 15 version 02.02.2022 [digital resource]. [Vremennye metodicheskie rekomendatsii. Profilaktika, diagnostika i lechenie novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19)]. 15 versiya ot 02.02.2022 Access mode: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf*
 14. Iba T., Levy J.H., Connors J.M. et al. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Crit. Care*. 2020; 24(1): 360. doi: 10.1186/s13054-020-03077-0
 15. Conway E.M., Mackman N., Warren R.Q., et al. Understanding COVID-19-associated coagulopathy. *Nat Rev Immunol*. 2022; 22: 639–49. doi:10.1038/s41577-022-00762-9
 16. Kashtanova E.V., Shakhshneider E.V., Kruchinina M.V., Logvinenko I.I., Striukova E.V., Ragino Yu.I. Biochemical, molecular genetic and clinical aspects of COVID-2019. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2021; 20(1): 147–57. doi: 10.20538/1682-0363-2021-1-147-157
 17. Yamada S., Asakura H. Coagulopathy and Fibrinolytic Pathophysiology in COVID-19 and SARS-CoV-2 Vaccination. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 19; 23(6): 3338. doi: 10.3390/ijms23063338
 18. Bouck E.G., et al. COVID-19 and sepsis are associated with different abnormalities in plasma procoagulant and fibrinolytic activity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2021; 41: 401–14. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315338
 19. Rostami M., Mansouritorghabeh H. Trend of fluctuations of anti-thrombin in plasma of patients with COVID-19: A meta-analysis and systematic review. *Expert Rev. Hematol*. 2022; 15: 747–55. doi: 10.1080/17474086.2022.2104708
 20. Ranucci M., et al. COVID-19-associated coagulopathy: biomarkers of thrombin generation and fibrinolysis leading the outcome. *J. Clin. Med*. 2020 doi: 10.3390/jcm9113487
 21. Blasi A., et al. In vitro hypercoagulability and ongoing in vivo activation of coagulation and fibrinolysis in COVID-19 patients on anticoagulation. *J. Thromb. Haemost*. 2020; 18: 2646–53. doi: 10.1111/jth.15043
 22. Zheng Z., et al. Interacting hepatic PAI-1/tPA gene regulatory pathways influence impaired fibrinolysis severity in obesity. *J. Clin. Invest*. 2020; 130: 4348–59. doi: 10.1172/JCI135919. PMID: 32657780
 23. FitzGerald E.S., Chen Y., Fitzgerald K.A., Jamieson A.M. Lung epithelial cell transcriptional regulation as a factor in COVID-19-associated coagulopathies. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2021; 64: 687–97. doi: 10.1165/rcmb.2020-0453OC
 24. Hashemi S.M.A., Thijssen M., Hosseini S.Y., et al. Human gene polymorphisms and their possible impact on the clinical outcome of SARS-CoV-2 infection. *Arch Virol*. 2021; 166: 2089–108. (In Engl.) doi: 10.1007/s00705-021-05070-6.
 25. Mast A.E., et al. SARS-CoV-2 suppresses anticoagulant and fibrinolytic gene expression in the lung. *eLife*. 2021 doi: 10.7554/eLife.64330
 26. Moiseva D.L., Gorodin V.N., Skoblikov N.E., Zotov S.V., Tikhonenko Y.V. Features of polymorphism of some genes of the hemostasis system in patients with COVID-19. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2021; vol. 16, № 6 (96): 35–40.
 27. Kapusta A.A. Molecular and genetic features of coronavirus infection COVID-19 (literature review). *Novye impul'sy razvitiya: voprosy nauchnykh issledovaniy*. 2021; (1): 17–30.

Сведения об авторах:

Осиков Михаил Владимирович, доктор мед. наук., проф., зав. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, руководитель отдела научной работы ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница;

Антонов Владимир Николаевич, доктор мед. наук, доцент, проф. каф. терапии, ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий областным пульмонологическим центром ГАУЗ ОКБ №3 г. Челябинска, гл. внештатный пульмонолог Министерства здравоохранения Челябинской области;

Чулков Василий Сергеевич, доктор мед. наук, доцент, и.о. директора медицинского института, проф. каф. внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого»;

Зотов Семён Олегович, ст. лаб. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, зав. терапевтическим отд-нием ЧОИЦ ГАУЗ ОКБ № 3 г. Челябинска.