



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.13.2.045>
УДК [616.9:578.834.1:616.36-004:578.891]:575:616-005.1



Ахмедова М.Д.¹ ✉, Имамова И.А.¹, Мирзажонов Д.Б.¹, Камалов Ф.И.², Мешкова Н.А.³

¹ Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

² Инфекционная больница Касанского района, Касан, Узбекистан

³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия

Маркеры наследственной отягощенности по склонности к гемостатическим нарушениям при COVID-19-инфекции, ассоциированной с хроническими вирусными гепатитами

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование, сбор материала, обработка, написание текста – Ахмедова М.Д.; концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка, написание текста – Имамова И.А., редактирование, обработка, написание текста – Мирзажонов Д.Б., обработка, написание текста – Камалов Ф.И.; обработка материала и написание текста – Мешкова Н.А.

Подана: 28.05.2024

Принята: 10.06.2024

Контакты: tmainfection@mail.ru

Резюме

Цель. Изучение генетических маркеров наследственной отягощенности по склонности к гемостатическим нарушениям при COVID-19-инфекции, ассоциированной с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ).

Материалы и методы. В исследование были включены 96 (100%) пациентов, из них 48 (50%) – со среднетяжелой формой COVID-19-инфекции, протекающей на фоне ХВГ, и 48 (50%) пациентов с тяжелой формой заболевания с наиболее высокими показателями уровня Д-димера и ИЛ-6, из них 5 с летальным исходом. Пациентов с ХВГС и ХВГВ было поровну. Клинические особенности и результаты лабораторных методов исследования пациентов заносили в индивидуальные регистрационные карты – электронные фишки на листы Microsoft Excel. Средний возраст пациентов со среднетяжелой формой COVID-19-инфекции, протекающей на фоне ХВГ, составил $49,63 \pm 1,75$ года, а пациентов с тяжелой формой заболевания – $52,94 \pm 1,95$ года, из них с фатальным исходом – $60,4 \pm 6,19$ года. Было проведено определение полиморфизма rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A методом ПЦР.

Результаты. Выявлено, что длительность хронического вирусного гепатита (более 10 лет) у пациентов с COVID-19-инфекцией непосредственно влияет на тяжесть заболевания. Установлено, что гомозиготная мутация (AA) гена VEGFA -2578 C/A локуса rs699947 достоверно чаще (в 1,43 раза выше) выявлялась при тяжелой форме (20,83%), нежели при среднетяжелой форме COVID-19-инфекции, ассоциированной с хроническими вирусными гепатитами (14,6%). Такая же картина отмечена и в гене VEGFA -1154 G/A локуса rs1570360, где гомозиготная мутация (GG) при тяжелой форме составила 33,33%, а при среднетяжелой форме – 8,33%, т. е. была в 2 раза выше. У пациентов как со среднетяжелой, так и с тяжелой формой COVID-19-инфекции,

протекающей на фоне ХВГ, полиморфизм AA в отличие от AC, CC локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и полиморфизм GG в отличие от GA, AA локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A предрасполагали достоверно ($p < 0,05$) к высокому уровню ИЛ-6, ставшего достоверной причиной развития воспалительного процесса (СРБ $59,54 \pm 13,74$ и $62,28 \pm 14,02$ мг/мл соответственно), системного повреждения тканей (уровень ФНО $17,57 \pm 0,43$ и $18,03 \pm 0,39$ пг/мл), способствуя нарастанию уровня Д-димера и тромбофилии у данной категории пациентов.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют об ассоциации полиморфизма AA локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и GG локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A с формированием тяжелой формы COVID-19-инфекции, протекающей на фоне ХВГ, тромбофилии, воспаления и системного повреждения тканей.

Ключевые слова: ген VEGFA, COVID-19-инфекция, гемостаз, генетика, хронический вирусный гепатит

Akhmedova M.¹ ✉, Imamova I.¹, Mirzajonova D.¹, Kamalov F.², Meshkova N.³

¹ Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

² Infectious Diseases Hospital of Kasan District, Kasan, Uzbekistan

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Markers of Hereditary Aggravation for Susceptibility to Haemostatic Disorders in COVID-19 Infection Associated with Chronic Viral Hepatitis

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: conception and design of the study, editing, material collection, processing, writing of the text – Akhmedova M.; conception and design of the study, editing, processing, writing of the text – Imamova I., editing, processing, writing of the text – Mirzajonova D., processing, writing of the text – Kamalov F.; material processing and text writing – Meshkova N.

Submitted: 28.05.2024

Accepted: 10.06.2024

Contacts: tmainfection@mail.ru

Abstract

The purpose. To investigate genetic markers of hereditary aggravation for susceptibility to hemostatic disorders in COVID-19 infection associated with chronic viral hepatitis.

Materials and methods. 96 (100%) patients were included in the study, including 48 (50%) patients with a moderate form of COVID-19 infection occurring in the background of CVC and 48 (50%) patients with a severe form of the disease with the highest indicators of D-dimer and IL-6 levels, including 5 with lethal outcome. The number of patients with HCV and HDV was equal. Clinical features and results of laboratory methods of investigation of the examined patients were recorded in individual patient registration cards – electronic chips on Microsoft Excel Sheets. The average age of patients with moderate form of COVID-19 infection with CVH background was $49,63 \pm 1,75$ years, and patients with severe form of the disease was $52,94 \pm 1,95$ years, of them with fatal outcome $60,4 \pm 6,19$ years. The determination of polymorphism rs699947 of VEGFA gene -2578 C/A and rs1570360 of VEGFA gene -1154 G/A by PCR was performed.

Results and discussion. It was revealed that the duration of chronic viral hepatitis (more than 10 years) in patients with COVID-19 infection directly affects the severity of the disease. It was found that homozygous mutation (AA) of VEGFA -2578 C/A gene of rs699947 locus was significantly more frequently (1.43 times higher) detected in severe form (20.83%) than in moderately severe form of COVID-19 associated chronic viral hepatitis (14.6%). The same pattern was noted in the VEGFA gene -1154 G/A locus rs1570360, where the homozygous mutation (GG) in the severe form was 33.33% and in the moderate form 8.33%, i. e. it was 2-fold higher.

Both in patients with moderate and in patients with severe form of COVID-19 infection occurring against the background of Chronic viral hepatitis, polymorphism AA in contrast to AC, CC of locus rs699947 of VEGFA gene -2578 C/A and polymorphism GG in contrast to GA, AA of locus rs1570360 of VEGFA gene -1154 G/A predispose significantly ($p < 0,05$) to high content of IL-6 levels, which became a reliable cause of inflammatory process development (CRP $59,54 \pm 13,74$ and $62,28 \pm 14,02$ mg/ml respectively), systemic tissue damage (TNF level $17,57 \pm 0,43$ and $18,03 \pm 0,39$ pg/ml), predisposing to increase of D-dimer level and thrombophilia in this category of patients.

Conclusions. The data obtained by us indicate the association of polymorphism AA of locus rs699947 of VEGFA gene -2578 C/A and GG of locus rs1570360 of VEGFA gene -1154 G/A with the formation of severe form of COVID-19 infection occurring in the background of CVD, thrombophilia, inflammation and systemic tissue damage.

Keywords: VEGFA gene, COVID-19 infection, hemostasis, genetics, chronic viral hepatitis

■ ВВЕДЕНИЕ

Распространение по миру новых вариантов SARS-CoV-2, таких как альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), дельта (B.1.617.2), омикрон (B.1.1.529) и другие, привело к продолжению проведения научных работ [1].

На современном этапе некоторые заболевания, в частности COVID-19-инфекцию, следует рассматривать как многофакторное заболевание, развитие которого может существенно усугубиться при наличии ряда сопутствующих заболеваний или генетических вариантах некоторых белков, участвующих в патогенезе [2]. Нами решено изучить такое сопутствующее заболевание при COVID-19-инфекции, как хронические вирусные гепатиты (ХВГ). Это связано с тем, что в обеих нозологиях основная роль отводится нарушению гемостаза. Вот только акцент при COVID-19-инфекции ставят на склонности к гиперкоагуляции с тромбофилией, а при ХВГ – к гипокоагуляции, ибо в печени происходит синтез почти всех факторов свертывания крови [3–5].

То есть фактически COVID-19-инфекция, ассоциированная с ХВГ, должна протекать в более легкой форме, без значимой склонности к тромбофилии. Но нами отмечались и случаи агрессивности заболевания с формированием летального исхода, случаи резистентности к традиционной терапии и затяжному течению несмотря на то, что подавляющее большинство случаев рассматриваются как доброкачественное разрешаемое заболевание. Существует доказанная связь между гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, чаще ИЛ-6, с тяжестью COVID-19-инфекции и тромбофилией [3, 4], вследствие чего нами решено изучить гемостатические нарушения при COVID-19-инфекции, протекающей на фоне ХВГ в ассоциации гена

VEGFA (vascular endothelial growth factor A) с полиморфизмом rs699947 -2578 C/A и rs1570360 -1154 G/A.

Изучение однонуклеотидного полиморфизма гена VEGFA проводилось в ассоциации с атеросклерозом, сердечно-сосудистыми заболеваниями, раком щитовидной, молочной желез, легких, с диабетической ретинопатией [2].

В проведенных исследованиях установлено, что выраженным влиянием на фенотипы является неравномерное действие внешних факторов, одним из которых является курение [2].

Возможно, выраженным фактором у пациентов с ХВГ является наслоение на хронический патологический процесс в паренхиме печени COVID-19-инфекции.

Выявление генетических маркеров наследственной отягощенности может помочь в идентификации пациентов с высоким риском развития тромбоэмболических осложнений при COVID-19-инфекции, ассоциированной с хроническими вирусными гепатитами (KBХГ).

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение генетических маркеров наследственной отягощенности по склонности к гемостатическим нарушениям при COVID-19-инфекции, ассоциированной с хроническими вирусными гепатитами.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 96 (100%) пациентов, из них 48 (50%) – со среднетяжелой формой COVID-19-инфекции, протекающей на фоне ХВГ (КХВГ) (из них 24 с ХВГС: 20 женщин и 4 мужчин; 24 с ХВГВ: 12 женщин и 12 мужчин), и 48 (50%) пациентов с тяжелой формой заболевания (из них 24 с ХВГС: 12 женщин и 12 мужчин; 24 с ХВГВ: 12 женщин и 12 мужчин) с наиболее высокими показателями уровня Д-димера и ИЛ-6, из них 5 с летальным исходом (2 с ХВГС и 3 с ХВГВ; все мужчины). Средний возраст пациентов со среднетяжелой формой КХВГ составил $49,6 \pm 1,8$ года (диапазон 26–69), а пациентов с тяжелой формой заболевания – $52,9 \pm 1,9$ года (диапазон 23–73), из них с фатальным исходом – $60,4 \pm 6,2$ года: min 38 – max 73 года. Клинические особенности и результаты лабораторных методов исследования обследованных занесли в индивидуальные регистрационные карты пациента – электронные фишки на листы Microsoft Excel.

Выявление полиморфизмов генетических вариантов проводили, разделяя клеточные элементы крови с выделением лимфоцитов из цельной крови путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. В последующем, используя комплект реагентов «ДНК-сорб-В», выделяли ДНК из лимфоцитов и методом аллель-специфичной полимеразно-цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов реагентов (Sintol, Россия) (NP-454-100 RG) с определением полиморфизма локуса rs699947 гена VEGFA -C2578A и локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A на основании методов амплификации и флуоресцентной детекции.

Средние значения обозначены в виде $M \pm m$ с использованием точного критерия Фишера для оценки различия качественных показателей, где статистически значимым считалось значение $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Посредством сбора анамнеза было установлено, что хронический вирусный гепатит у пациентов со среднетяжелой формой COVID-19-инфекции имел продолжительность хронизации вирусного процесса в среднем в течение $9,7 \pm 1,3$ года, у пациентов с тяжелой формой – $14,4 \pm 1,9$ года, из них с летальным исходом – $10,6 \pm 3,5$ года.

Изучение лабораторных показателей при поступлении в стационар у пациентов со среднетяжелой формой COVID-19-инфекции, ассоциированной с ХВГ, установило, что уровень С-реактивного пептида составил $55,4 \pm 4,4$ мг/мл (ХВГС $52,9 \pm 6,3$; ХВГВ $57,8 \pm 6,2$), Д-димера $1,1 \pm 1,1$ мг/л (ХВГС $1,4 \pm 0,2$; ХВГВ $0,7 \pm 0,1$), ИЛ-6 $23,4 \pm 1,0$ пг/мл (ХВГС $23,2 \pm 1,6$ пг/мл; ХВГВ $23,7 \pm 1,4$ пг/мл), ПТИ $104,6 \pm 3,4\%$ (ХВГС $107,1 \pm 5,1$; ХВГВ $102,2 \pm 4,5$), ФНО $13,1 \pm 0,5$ пг/мл (ХВГС $13,9 \pm 0,7$; ХВГВ $12,1 \pm 0,6$). У пациентов с тяжелой формой КХВГ установлено, что уровень С-реактивного пептида составил $75,3 \pm 4,9$ мг/мл (ХВГС $81,5 \pm 7,4$; ХВГВ $69,2 \pm 6,4$), Д-димера $1,8 \pm 0,2$ мг/л (ХВГС $1,8 \pm 0,3$; ХВГВ $1,8 \pm 0,4$), ИЛ-6 $41,5 \pm 10,2$ пг/мл (ХВГС $55,3 \pm 19,9$; ХВГВ $27,7 \pm 2,5$), ПТИ $86,5 \pm 4,1\%$ (ХВГС $87,8 \pm 5,7$; ХВГВ $85,2 \pm 5,9$). Из них у пациентов с летальным исходом уровень С-реактивного белка составил $85,9 \pm 9,5$ мг/мл, Д-димера $3,4 \pm 1,3$ мг/л, ИЛ-6 $165,4 \pm 79,5$ пг/мл, ПТИ $85,9 \pm 10,0\%$ (ХВГС $87,8 \pm 5,7$; ХВГВ $85,2 \pm 5,9$), ФНО $24,2 \pm 0,9$ пг/мл (ХВГС $23,7 \pm 1,1$; ХВГВ $24,8 \pm 1,5$).

Изучение генетического профиля и тяжести COVID-19-инфекции, ассоциированной с ХВГ, у пациентов со среднетяжелой формой КХВГ ($n=48$) установило, что носителями генотипа АА локуса rs699947 гена VEGFA -2578 С/А были 7 ($14,6 \pm 0,6\%$) пациентов, из них с ХВГС было 5 ($20,8 \pm 0,9\%$), с ХВГВ – 2 ($8,3 \pm 0,6\%$); носителями генотипа АС были 23 ($47,9 \pm 1,0\%$) пациента, из них с ХВГС – 12 ($50,0 \pm 1,4$), с ХВГВ – 11 ($45,8 \pm 1,4$); носителями генотипа СС были 18 ($37,5 \pm 0,9\%$) пациентов, из них с ХВГС – 7 ($29,2 \pm 1,1\%$), с ХВГВ – 11 ($45,8 \pm 1,4\%$). При этом носителями генотипа GG локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A были 4 ($8,3 \pm 0,4\%$) пациента, из них с ХВГС и ХВГВ – по 2 пациента, что составило по $8,3 \pm 0,6\%$; носителями генотипа АА были 20 ($41,7 \pm 0,9\%$) пациентов, из них с ХВГС – 11 ($45,8 \pm 1,4\%$), с ХВГВ – 9 ($37,5 \pm 1,3\%$); носителями генотипа GA были 24 ($50,0 \pm 1,0\%$) пациента, из них с ХВГС – 11 ($45,8 \pm 1,4\%$), с ХВГВ – 13 ($54,2 \pm 1,5\%$). При этом количество койко-дней у всех пациентов со среднетяжелой формой КХВГ было $9,5 \pm 0,7$.

Среди изучаемых пациентов с тяжелой формой КХВГ ($n=48$) носителями генотипа АА локуса rs699947 гена VEGFA -2578 С/А были 10 ($20,83 \pm 0,66\%$) пациентов, из них с ХВГС – 6 ($25 \pm 1,02$), с ХВГВ – 4 ($16,67 \pm 0,83$); носителями генотипа АС были 17 ($35,4 \pm 0,9\%$) пациентов, из них с ХВГС – 8 ($33,3 \pm 1,2$), с ХВГВ – 9 ($37,5 \pm 1,3$); носителями генотипа СС локуса rs699947 гена VEGFA были 21 ($43,8 \pm 0,9\%$) пациент, из них с ХВГС – 10 ($41,7 \pm 1,3$), с ХВГВ – 11 ($45,8 \pm 1,4$). При этом носителями генотипа GG локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A были 8 ($33,3 \pm 1,2\%$) пациентов, из них с ХВГС – 5 ($20,8 \pm 0,9$) и с ХВГВ – 3 ($12,5 \pm 0,7\%$); носителями генотипа АА были 21 ($43,8 \pm 0,9\%$) пациент, из них с ХВГС – 10 ($41,7 \pm 1,3\%$), с ХВГВ – 11 ($45,8 \pm 1,4\%$); носителями генотипа GA были 19 ($79,2 \pm 1,8\%$) пациентов, из них с ХВГС – 10 ($41,7 \pm 1,3\%$), с ХВГВ – 9 ($37,5 \pm 1,3\%$). Количество койко-дней у всех пациентов с тяжелой формой КХВГ было $12,4 \pm 1,1$.

В результате анализа ассоциации исследуемых полиморфизмов в зависимости от течения COVID-19-инфекции, ассоциированной с ХВГ, установлено, что гомозиготная мутация (АА) гена VEGFA -2578 С/А локуса rs699947 достоверно чаще (в 1,43 раза выше) выявилась при тяжелой форме (20,83%), нежели при среднетяжелой форме COVID-19 (14,6%). Такая же картина отмечена и в гене VEGFA -1154 G/A локуса

rs1570360, где гомозиготная мутация (GG) при тяжелой форме составила 33,33%, а при среднетяжелой форме – 8,33%, т. е. была в 2 раза выше.

Частота встречаемости гетерозиготной мутации (A/C) гена VEGFA -2578 C/A локуса rs699947 выявлялась в 1,35 раза чаще при среднетяжелой форме COVID-19 (47,92%) по сравнению с тяжелой формой COVID-19 (35,42%), гетерозиготной мутации (G/A) гена VEGFA -1154 G/A локуса rs1570360 – в 1,26 раза чаще при среднетяжелой форме COVID-19 (50,0%) по сравнению с тяжелой формой COVID-19 (39,58%).

Совместный анализ генотипов по 2 локусам rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A в объединенной выборке, включающей пациентов с КХВГ со среднетяжелой и тяжелой формой, показал, что в выборках преобладают 3 мажорных сочетания генотипов: AA/GG ($n=11/11,46\pm0,35\%$), AC/GA ($n=39/40,63\pm0,65\%$) и CC/AA ($n=39/40,63\pm0,65\%$). В 7,29% случаев были обнаружены редкие сочетания генотипов AC/GG ($n=1/1,04\pm0,1\%$), AA/GA ($n=4/4,17\pm0,21\%$), AA/AA ($n=1/1,04\pm0,1\%$) и AC/GG ($n=1/1,04\pm0,1\%$). Остальные генотипы представлены не были.

Проведено изучение ассоциации генотипов AA, AC, CC в гене VEGFA -2578 C/A локуса rs699947 и GG, GA, AA в гене VEGFA -1154 G/A локуса rs1570360 с повышением некоторых лабораторных данных у пациентов со среднетяжелой и тяжелой формой COVID-19-инфекции, ассоциированной с ХВГ.

Так, несмотря на то что всем лицам со среднетяжелой формой КХВГ до либо при поступлении вводился гепарин, уровень протромбинового индекса (ПТИ) оставался на высоких значениях предела нормы. При этом у лиц со среднетяжелой формой КХВГ с генотипом AC локуса rs699947 гена VEGF-A -2578 C/A уровень ПТИ был выше, нежели при других генотипах, и составил в среднем $109,6\pm5,9\%$, и был выше у пациентов с ХВГС ($111,1\pm19,2\%$), нежели у пациентов с ХВГВ ($107,9\pm7,6\%$); у лиц с генотипом AA уровень ПТИ составил в среднем $104,0\pm5,2\%$ и был выше у пациентов с ХВГВ ($113,4\pm13,7\%$), нежели у пациентов с ХВГС ($100,3\pm5,2\%$); у лиц с генотипом CC уровень ПТИ составил в среднем $98,5\pm4,4\%$ и был выше у пациентов с ХВГС ($104,9\pm6,9\%$), нежели у пациентов с ХВГВ ($94,4\pm5,5\%$). При этом уровень Д-димера был выше у пациентов с генотипами AA. Подобная картина у пациентов со среднетяжелой формой отмечена и при изучении локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A.

То есть у пациентов со среднетяжелой формой КХВГ на фоне высокого значения в пределах нормы уровня ПТИ отмечалось и повышение уровня Д-димера, который свидетельствовал о склонности к тромбофилии и был более выражен при генотипе AA локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A (в среднем $2,3\pm0,3$ мг/л; был выше у пациентов с ХВГС ($2,5\pm0,4$ мг/л), нежели у пациентов с ХВГВ ($1,7\pm0,4$ мг/л)) и при генотипе GG локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A (в среднем $2,5\pm0,4$ мг/л; был выше у пациентов с ХВГС ($2,5\pm0,5$ мг/л), нежели у пациентов с ХВГВ ($1,8\pm0,4$ мг/л)). Уровень Д-димера при генотипе AC и CC локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A, а также GA и AA локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A был ниже, нежели при генотипе AA и GG соответственно. Изучение провоспалительного цитокина ИЛ-6 в группе со среднетяжелой формой КХВГ установило наиболее его повышенный уровень у пациентов с генотипом AA локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A, а также GG локуса rs1570360 гена VEGF-A -1154 G/A, уровень которого в среднем составил $31,94\pm1,62$ пг/мл и $33,91\pm1,71$ пг/мл соответственно.

У пациентов со среднетяжелой формой КХВГ полиморфизм AA в отличие от AC, CC локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и полиморфизм GG в отличие от GA, AA

локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A предрасполагали к достоверно ($p<0,05$) высокому содержанию уровня ИЛ-6, что стало достоверной причиной развития воспалительного процесса (СРБ $59,54\pm 13,74$ и $62,28\pm 14,02$ мг/мл соответственно), системного повреждения тканей (уровень ФНО $17,57\pm 0,43$ и $18,03\pm 0,39$ пг/мл), обуславливая нарастание уровня Д-димера и тромбофилию.

Анализ ассоциации полиморфизма с ПТИ у пациентов с тяжелой формой КХВГ выявил его значение в пределах нормы. При этом уровень Д-димера был выше у пациентов с генотипом AA локуса rs699947 гена VEGF-A -2578 C/A, составив в среднем $3,4\pm 0,6$ мг/л, и выше у пациентов с ХВГВ ($3,7\pm 1,6$ мг/л), нежели у пациентов с ХВГС ($3,2\pm 0,4$ мг/л). При генотипе AC уровень Д-димера был самым низким, составив в среднем $1,4\pm 0,2$ мг/л, и выше у пациентов с ХВГВ ($1,53\pm 0,3$ мг/л), нежели у пациентов с ХВГС ($1,2\pm 0,3$ мг/л). При генотипе CC уровень Д-димера был ниже, чем при полиморфизме генотипа AA, составив в среднем $1,4\pm 0,3$ мг/л (ХВГВ $1,4\pm 0,4$ мг/л, ХВГС $1,4\pm 0,3$ мг/л). Таким образом, у пациентов с ХВГВ тромбофилия при генотипах AA, AC была несколько выражена, нежели у пациентов с ХВГС, но не достоверно.

Несмотря на более высокий уровень ПТИ, находившийся в пределах нормы при генотипе CC гена VEGF-A -2578 C/A, составивший $92,1\pm 5,3\%$, значение уровня Д-димера было ниже ($1,4\pm 0,3$ мг/л), нежели у пациентов с тяжелой формой КХВГ с генотипом AA (при ПТИ $85,6\pm 9,4\%$ уровень Д-димера был самым высоким и составил в среднем $3,4\pm 0,6$ мг/л).

Уровень Д-димера у пациентов с тяжелой формой КХВГ при генотипе GG локуса rs1570360 гена VEGF-A -1154 G/A составил в среднем $3,3\pm 0,6$ мг/л и был недостоверно выше у пациентов с ХВГВ ($3,8\pm 1,6$ мг/л), нежели у пациентов с ХВГС ($3,1\pm 0,4$ мг/л). При генотипе GA уровень Д-димера был ниже и составил в среднем $1,46\pm 0,28$ мг/л (ХВГВ $1,4\pm 0,3$ мг/л, ХВГС $1,3\pm 0,4$ мг/л). При генотипе AA уровень Д-димера был среди них самым низким и составил в среднем $1,5\pm 0,3$ мг/л (ХВГВ $1,4\pm 0,3$ мг/л, ХВГС $1,5\pm 0,5$ мг/л).

Изучение вышеизложенного позволило установить, что полиморфизм AA в отличие от AC, CC локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и полиморфизм GG в отличие от GA, AA локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A предрасполагали к тяжелой форме КХВГ с достоверно ($p<0,05$) высоким содержанием уровня ИЛ-6, что стало причиной развития выраженного воспалительного процесса (СРБ $59,5\pm 13,7$ и $62,3\pm 14,0$ мг/мл соответственно), достоверно выраженного ($p<0,05$) системного повреждения тканей (уровень ФНО $30,6\pm 1,3$ и $29,6\pm 1,4$ пг/мл), достоверно выраженной тромбофилии с высоким уровнем уровня Д-димера на фоне нормального значения ПТИ и фатальности у пациентов с КХВГ.

Это диктует соблюдение правил во введении гипокоагулянтов данной категории пациентов. То есть повышенные показатели уровня Д-димера (выше 1,0 мг/л) свидетельствовали о наличии у пациентов гемофилии на фоне нормального гемостаза, а следовательно, спонтанное назначение высокомолекулярного нефракционного гепарина этой категории пациентов способно усугубить их состояние (см. таблицу).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Активация провоспалительного цитокина ИЛ-6 и ФНО-альфа у пациентов с КХВГ оказывала влияние на гемостатические показатели: несмотря на проводимую гипокоагулянтную терапию и уровень ПТИ в пределах нормы, уровень Д-димера (выше 1,0 мг/л) оставался высоким у части пациентов, что свидетельствовало о

Характеристика пациентов
Laboratory characteristics of patients

По-лимор-физм	ПТИ, %		Д-димер, мг/л		ИЛ-6, пг/мл		ФНО, пг/мл	
	Средне-тяжелая форма	Тяжелая форма	Средне-тяжелая форма	Тяже-лая форма	Средне-тяжелая форма	Тяжелая форма	Средне-тяжелая форма	Тяжелая форма
Генотип локуса rs699947 гена VEGF -2578 C/A								
AA	104,03±	85,64±	2,27±	3,39±	31,94±	110,99±	17,57±	30,58±
	5,24#	9,36#	0,32	0,62 ^Δ	1,62 ^Δ #	43,1 ^Δ	0,43 ^Δ #	1,34 ^Δ
	100,30±	84,51±	2,47±	3,2±	30,08±	161,2±	17,8±	28,97±
	5,18*	1,41	0,41	0,36	1,34*#	65,55 ^Δ	0,49 ^Δ #	1,32 ^Δ
	113,35±	87,33±	1,75±	3,68±	36,60±	35,70±	17,0±	33,0±
	13,65#	7,79 ^Δ	0,35	1,59 ^Δ	2,60#	4,61 ^Δ	1,0 ^Δ #	2,44 ^Δ
AC	109,56±	80,15±	0,93±	1,36±	20,83±	24,12±	12,03±	21,61±
	5,89°	7,66°	0,20	0,21	1,40	1,82	0,63	1,31
	111,06±	86,61±	1,27±	1,22±	19,18±	22,41±	13,07±	19,69±
	19,21	7,09*	0,37	0,31	2,09	2,41	1,02	1,39°
	107,92±	74,41±	0,57±	1,48±	22,63±	25,64±	10,91±	23,31±
	7,56°	13,18°	0,06	0,28	1,78	2,72	0,61	2,04
CC	98,49±	92,07±	0,77±	1,41±	23,45±	22,53±	12,71±	23,86±
	4,39	5,30	0,11	0,26#	1,44	2,83#	0,73#	1,29#
	104,99±	90,79±	0,87±	1,39±	25,04±	18,13±	13,13±	23,77±
	6,99*	9,22	0,19	0,29#	2,65	2,45*#	1,07	1,53#
	94,36±	93,23±	0,71±	1,42±	22,44±	26,53±	12,42±	22,95±
	5,52	6,12	0,14	0,44#	1,67	4,72#	1,0	2,11#
Генотип локуса rs1570360 гена VEGF -1154 G/A								
GG	102,04±	86,2±	2,47±	3,28±	33,91±	96,41±	18,03±	29,62±
	5,12#	9,42	0,38	0,58	1,71 ^Δ #	44,01 ^Δ	0,39 ^Δ #	1,42 ^Δ
	98,20±	84,88±	2,51±	3,12±	30,23±	146,12±	17,28±	26,34±
	5,03*	16,10	0,46	0,38	1,24* ^Δ #	64,1 ^Δ	0,58#	1,38 ^Δ *
	113,35±	85,48±	1,75±	3,76±	36,60±	48,62±	17,0±	34,28±
	13,65 ^Δ #	8,21	0,35	1,62 ^Δ	2,60 ^Δ #	6,84 ^Δ	1,0 ^Δ #	2,51 ^Δ
GA	105,23±	82,52±	1,10±	1,46±	21,83±	26,13±	12,61±	22,31±
	5,92°	8,26°	0,25	0,28	1,36	1,92	0,70	1,42
	106,32±	84,66±	1,12±	1,32±	18,92±	23,64±	13,94±	20,12±
	17,9°	6,94	0,41	0,36	1,21	2,81	0,98*	1,40°
	102,56±	78,52±	0,68±	1,40±	22,02±	24,12±	11,36±	22,61±
	8,2	12,31°	0,11	0,29	1,94	2,36	0,54	1,96
AA	94,98±	89,94±	0,81±	1,46±	20,98±	23,14±	12,10±	24,12±
	5,2	6,12	0,51	0,29	1,62	2,38#	0,89	1,36#
	100,98±	90,12±	0,71±	1,42±	23,54±	21,12±	13,02±	24,32±
	7,3*	8,62	0,21	0,31	2,80	3,12#	0,92	1,56
	96,5±	93,46±	0,69±	1,46±	21,48±	24,38±	12,97±	23,84±
	6,1	5,94#	0,23	0,46#	1,89	3,87#	1,05	1,94#

Примечания: * p<0,05 – достоверность отличий между пациентами с ХВГС и ХВГВ; ^Δ p<0,05 – достоверность отличий между пациентами общей группы между полиморфизмом AA и AC / GG и GA; # p<0,05 – достоверность отличий между пациентами общей группы между полиморфизмом AA и CC / GG и AA; ° p<0,05 – достоверность отличий между пациентами общей группы между полиморфизмом AC и CC / GA и AA.

продолжающейся тромбофилии и приводило к утяжелению состояния пациента. В исследовании выявлено, что наличие комбинации аллелей риска полиморфизмов AA локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и полиморфизм GG локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A предрасполагали к тяжелой форме КХВГ и приводили к кумулятивному повышению риска гемостатических нарушений.

Выявленные генетические маркеры могут быть полезны для оценки наследственной отягощенности по склонности к гемостатическим нарушениям при КХВГ,

комбинация которых может помочь в стратификации риска и принятии решений о профилактике и лечении тромбозов. Представленные выше результаты демонстрируют необходимость в использовании низкомолекулярных фракционных антикоагулянтов, при этом спонтанное назначение высокомолекулярного нефракционного гепарина способно усугубить состояние пациентов.

Таким образом, понимание генетической основы гемостатических нарушений при COVID-19 может также привести к разработке персонализированных терапевтических стратегий. Необходимо дальнейшее исследование для подтверждения этих результатов и изучения других генетических факторов, которые могут влиять на склонность к гемостатическим нарушениям при COVID-19-инфекции, ассоциированной с вирусными гепатитами.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предиктором развития тяжелой формы COVID-19, ассоциированной с ХВГ, являлся длительный хронический вирусный процесс в паренхиме печени (более 10 лет).

Установлена ассоциация гомозиготной мутации – полиморфизма AA гена VEGFA -2578 C/A локуса rs699947 и GG VEGFA -1154 G/A локуса rs1570360 с формированием тяжелой формы COVID-19, ассоциированной с ХВГ и летальностью пациента.

Полиморфизм AA в отличие от AC, CC локуса rs699947 гена VEGFA -2578 C/A и полиморфизм GG в отличие от GA, AA локуса rs1570360 гена VEGFA -1154 G/A располагали к достоверно ($p < 0,05$) высокому содержанию уровня ИЛ-6, что стало причиной развития выраженного воспалительного процесса (СРБ $59,5 \pm 13,7$ и $62,3 \pm 14,0$ мг/мл соответственно), достоверно выраженного ($p < 0,05$) системного повреждения тканей (уровень ФНО $30,6 \pm 1,3$ и $29,6 \pm 1,4$ пг/мл), достоверно выраженной тромбофилии с высоким уровнем Д-димера на фоне нормального значения ПТИ.

Повышенные показатели уровня Д-димера (выше 1,0 мг/л) свидетельствовали о наличии у пациентов тромбофилии на фоне нормального гемостаза, а следовательно, спонтанное назначение высокомолекулярного нефракционного гепарина этой категории пациентов способно усугубить их состояние. Таким образом, проведение стандартной терапии гипокоагулянтами у пациентов с COVID-19, протекающим на фоне ХВГ, необходимо проводить только с применением низкомолекулярных гепаринов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. daSilva SJR, doNascimento JCF, GermanoMendes RP, Guarines KM, TarginoAlvesdaSilva C, daSilva PG, deMagalhães JF, Vigar JRJ, Silva-Júnior A, Kohl A, Pardee K, Pena L. TwoYearsintothe COVID-19 Pandemic: LessonsLearned. *ACS Infect Dis*. 2022 Sep. 9;8(9):1758–1814. Epub 2022 Aug 8. PMID: 35940589. PMCID: PMC9380879. doi: 10.1021/acsinfectdis.2c00204
2. Ivantsov Evgeniy N., Magamedkerimova Ferida A., Makarov Maxim A., et al. Family history of coronary heart disease and left main coronary artery stenosis genetic markers in patients with acute coronary syndrome. *Bulletin of modern clinical medicine*. 2018;11(issue. 5):43–47. doi: 10.20969/VSKM.2018.11(5).43-47
3. Shatohin Yu.V., Snezhko I.V., Ryabikina E.V. Violation of hemostasis in coronavirus infection. *South Russian Journal of Therapeutic Practice*. 2021;2(2):6–15. doi: 10.21886/2712-8156-2021-2-2-6-15. (in Russian)
4. Galeeva N.V., Kravchenko I.E. Hemostatic parameters in patients with chronic hepatitis C. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2018;23(6):279–285. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/pokazateli-gemostaza-u-bolnyh-hronicheskim-gepatitom-s> (accessed 07.01.2021). doi: 10.18821/1560-9529-2018-23-6-279-285. (in Russian)
5. Morozov Yu.A., Mednikov R.V., Charnaya M.A. Disturbances of the hemostatic system in liver pathology and their diagnosis. *Hemorrhagic diathesis, thrombosis, thrombophilia*. 2014;(1). Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/naruseniya-sistemy-gemostaza-pri-patologii-pecheni-i-ih-diagnostika> (accessed 07.01.2021). (in Russian)