

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Факультет фундаментальной медицины

На правах рукописи

Некрасова Людмила Андреевна

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ
С ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ, С ТЯЖЕСТЬЮ ПОРАЖЕНИЯ
ЛЕГКИХ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19**

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

1.5.4 – Биохимия

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
кандидат медицинских наук, доцент
Самоходская Лариса Михайловна
доктор биологических наук
Семина Екатерина Владимировна

Москва – 2023

Оглавление

Оглавление	2
ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Фибринолитическая система: ее компоненты и общие функции в организме	13
1.1.1. Урокиназный активатор плазминогена и его рецептор	15
1.1.2. Ингибитор активатора плазминогена 1 типа	24
1.1.3. Плазминоген и плазмин	30
1.2. Вазодилататоры – эндотелиальная NO-синтаза (eNOS)	34
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Контингент исследования	40
2.2. Протокол компьютерной томографии грудной клетки и оценка выраженности изменений в легких	41
2.3. Материал исследования	43
2.4. Выделение геномной ДНК	43
2.5. Определение полиморфизма исследуемых генов	44
2.6. Определение сывороточных концентраций uPAR	47
2.7. Статистическая обработка данных	48
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	51
3.1. Ассоциация тяжести поражения легких с полом и возрастными группами	51
3.2. Коагулологический и биохимический анализ крови. Ассоциация факторов анализа крови со степенью поражения легких	54
3.3. Ассоциация изучаемых полиморфных вариантов генов с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19	61

3.4. Оценка уровня сывороточной концентрации uPAR как прогностического критерия тяжести повреждения легких при COVID-19.....	66
3.5. Взаимосвязь концентрации uPAR в сыворотке крови с изучаемыми полиморфными вариантами генов	71
3.6. Интегральная модель оценки характера течения COVID-19 и прогнозирования тяжести повреждения легких	75
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	78
4.1. Связь показателей гемостаза с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19	78
4.2. Прогностические возможности уровня С-реактивного белка	80
4.3. Ассоциация полиморфизма гена <i>PLAUR</i> с тяжестью поражения легких при COVID-19.....	82
4.4. Диагностическая ценность и прогностическая значимость уровня uPAR в сыворотке крови.....	84
4.5. Интеграция данных о прогностических возможностях полиморфного варианта гена <i>PLAUR</i> rs2302524 и уровня растворимой формы uPAR.....	87
4.6. Ограничения и перспективы использования результатов	88
ВЫВОДЫ	90
Практические рекомендации.....	91
Список сокращений и обозначений	92
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Пандемия COVID-19 потребовала быстрой разработки новых и эффективных подходов, направленных на снижение вирусной нагрузки, подавление избыточного иммунного ответа и предотвращение развития тяжелых осложнений, таких как фиброз легких, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и тромбоз [1]. Одной из перспективных мишеней для изучения механизмов развития пневмонии, системного воспаления и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания (ДВС-синдром) при COVID-19 является система активаторов плазминогена, которая катализирует превращение зимогена плазминогена до активной протеазы плазмина – одного из основных активаторов фибринолиза в крови, деградации полимеров фибрина, образующихся при свертывании крови [2]. Результаты проведенного мета-анализа показали, что у больных с тяжёлым течением COVID-19 в анамнезе присутствует гипертоническая болезнь, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и онкологические заболевания [3]. Тем не менее, тяжелое течение COVID-19 наблюдается не только у пациентов с сопутствующими патологиями, но и у здоровых лиц молодого возраста. Более того, в последнее время появились данные о возможной наследственной предрасположенности к определенному варианту течения заболевания COVID-19 [4]. Эти данные делают особенно актуальным поиск новых молекулярных и генетических критериев, прогнозирующих развитие тяжелых патологических состояний и осложнений при COVID-19.

Степень разработанности темы исследования

При поражении легких COVID-19 может проявляться в виде интерстициальной пневмонии и тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома [5]. Поскольку при COVID-19 также происходит усиленное тромбообразование в сосудах мелкого калибра жизненно важных органов и

блокада микроциркуляции, часто имеющая необратимый характер [6], предполагается, что система активаторов плазминогена может играть решающую роль при неблагоприятном течении заболевания [2]. Несомненно, опосредованное плазмином ремоделирование внеклеточного матрикса является крайне важным этапом в регенерации сосудов лёгочной ткани. В то же время, нарушение этого процесса может сместить баланс в сторону активации процессов фиброза, так как решающую роль в проникновении SARS-CoV-2 вируса внутрь клетки играет плазмин-зависимый протеолиз вирусного S-белка [7].

Эндотелий является основным регулятором сосудистого гомеостаза, поскольку выполняет барьерную функцию и способен отвечать на различные физические и химические сигналы путем выработки большого спектра факторов, регулирующих тонус сосудов, клеточную адгезию, миграцию гладкомышечных клеток и их пролиферацию, воспаление в сосудистой стенке и тромбообразование [8]. Эндотелиальная дисфункция характерна для многих патологических состояний, таких как атеросклероз, артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД), хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) и ишемическая болезнь сердца (ИБС) [9]. На физиологическом уровне эндотелиальная дисфункция характеризуется изменением фенотипа эндотелиальных клеток, нарушением межклеточных взаимодействий и, как следствие, увеличением проницаемости эндотелия [10]. Анализ постмортальных образцов пациентов с COVID-19 показал, что вирусные частицы обнаруживаются в эндотелии сосудов, что сопровождается инфильтрацией сосудистой стенки иммунными клетками, нарушением целостности эндотелиального монослоя и его адгезивных свойств, повышенным тромбообразованием, апоптозом и пироптозом эндотелиальных клеток. COVID-19-индуцируемый эндотелиит (васкулит) может быть причиной наблюдаемых системных нарушений микроциркуляторной функции сосудов различных органов и объяснять наблюдаемые клинические последствия у пациентов с COVID-19 [11]. Первоначально SARS-CoV-2 был описан как вирус, поражающий нижние дыхательные пути, а также желудочно-кишечный тракт, сердце, почки, печень и центральную нервную систему [12]. Однако в настоящее время ясно, что огромную

роль в патогенезе COVID-19 играет поражение кровеносных сосудов [6]. Эти данные дают основание для назначения терапии, направленной на стабилизацию эндотелиальных клеток при помощи противовоспалительных и антицитокиновых препаратов, ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, антикоагулянтов и статинов.

Известно, что наличие отдельных полиморфных вариантов генов, участвующих в формировании эндотелиальной дисфункции, коррелирует с тяжестью течения сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз и тромбоз [13]. В норме полиморфизм генов не является причиной развития серьезных изменений сосудов, однако в случае бактериальных или вирусных инфекций, нарушений гемостаза или развитии воспалительных реакций, это может быть фактором, ухудшающим тяжесть заболевания. Молекулярный механизм, объясняющий данный феномен, заключается в том, что полиморфизм в участках ДНК, регулирующих активность генов, может, не меняя свойств белка, изменить его количество или его взаимодействие с другими молекулами, что может отразиться на его функции (усилить или, наоборот, ослабить функцию) [14, 15]. В этой связи, перспективными мишенями для изучения механизмов развития эндотелиальной дисфункции при COVID-19 являются гены, участвующие в формировании коммуникаций между эндотелиальными клетками, клетками стромы и иммунными клетками, а также кровью, и определяющими барьерную функцию эндотелия [4]. Среди таких генов огромную роль играют гены, кодирующие урокиназный активатор плазминогена uPA и его рецептор uPAR, ингибитор активатора плазминогена PAI-1, сам плазминоген, эндотелиальную синтазу оксида азота eNOS, молекулы эндотелиальной клеточной адгезии. Ранняя диагностика, основанная на анализе полиморфизма данных генов, будет иметь важное значение для прогнозирования тяжелого течения и возможных осложнений при COVID-19.

Цель исследования

Цель данного исследования – изучение ассоциации полиморфизма генов, связанных с эндотелиальной дисфункцией, с тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19.

Задачи исследования

1. Сравнить характер распределения генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов, кодирующих белки урокиназного активатора плазминогена uPA и его рецептора uPAR, ингибитора активатора плазминогена PAI-1, эндотелиальной синтазы оксида азота eNOS у пациентов с различной тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19.
2. Выявить полиморфные аллели и (или) генотипы изучаемых генов, ассоциированные с определенной тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19.
3. Оценить взаимосвязь генов, ассоциированных с определенной тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19, с концентрацией их белковых продуктов в плазме крови.
4. Проанализировать связь сывороточной концентрации белков, кодируемых обнаруженными значимыми полиморфизмами генов, с тяжестью поражения легких при COVID-19.
5. Построить интегральную модель, позволяющую дополнительно к биохимическим и гемостатическим показателям посредством анализа молекулярно-генетических критериев прогнозировать тяжесть поражения легких при COVID-19.

Методология и методы исследования

Материалом исследования являлись образцы крови и сыворотки крови, а также результаты лабораторных исследований крови пациентов с диагностированным COVID-19 различной степени повреждения легких по результатам компьютерной томографии (КТ).

Изучаемое явление - генетически-обусловленные механизмы нарушения системы фибринолиза и развития эндотелиальной дисфункции при COVID-19. В настоящее исследование включены пациенты, проходившие стационарное лечение на базе Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета (МНОЦ МГУ) имени М.В. Ломоносова, Москва, с подтвержденным диагнозом COVID-19. Исследование проводилось на базе Отдела лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Диагноз COVID-19 подтверждали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на SARS-Cov-2. Анализ показателей гемостаза проводился на автоматическом анализаторе Stago STA Compact (Stago, Франция). Анализ уровня биохимических показателей крови проводился с использованием автоматического биохимического анализатора AU480 (Beckman Coulter, Германия). КТ легких и органов грудной клетки была выполнена на компьютерном томографе Somatom Score (Siemens, Германия) с толщиной среза 1 мм. Для обработки и анализа КТ использовали платформу Syngo.via (Siemens). При обработке и описании данных КТ использовалась полуколичественная шкала оценки объема зон инфильтрации и уплотнения легких. Геномную ДНК экстрагировали из периферической венозной крови с использованием набора для выделения ДНК «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-Технология, Россия). Полиморфные варианты исследуемых генов были генотипированы с использованием наборов с аллель-специфичными праймерами (ДНК-технология, Россия). Количественную ПЦР проводили на устройстве для ПЦР в реальном времени «ДТ-96» (ДНК-технология, Россия). Генотипы

определяли по температурам плавления продуктов амплификации в каналах FAM и HEX. Уровни растворимого uPAR в образцах сыворотки измеряли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). Для анализа использовали набор для иммуноферментного анализа uPAR человека «Human uPAR ELISA Kit» (Abcam, США). Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы R (версия 4.2.1) и встроенных пакетов epiTools (версии 0.5-10.1), genetics (версия 1.3.8.1.3), haplo.stats (версия 1.8.9), ROCit (версия 2.1.1), forestmodel (версия 0.6.2), ggpubr (версия 0.4.0) и ggplot2 (версия 3.3.6).

Личное участие автора заключалось в постановке экспериментальных исследований, получении всех видов изображений, систематизации, обработке и интерпретации всех полученных данных, анализе результатов. Планирование исследований, обсуждение и обобщение полученных результатов осуществлялось совместно с научными руководителями: к.м.н. Самоходской Л.М.; д.б.н. Семиной Е.В. Сбор образцов, подбор пациентов в исследование, проведение методик осуществлялись с участием сотрудников МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова.

Научная новизна исследования

Данное клиническое исследование направлено на выявление первоначальных предикторов тяжести поражения легких, вызванного SARS-CoV-2. Это первое ретроспективное когортное исследование в Российской Федерации, в котором изучалась взаимосвязь между определенными полиморфными вариантами генов, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, уровнем растворимой формы белка uPAR в сыворотке крови, параметрами лабораторного анализа крови и процентом поражения легких на основе компьютерной томографии у пациентов с COVID-19.

В представленной работе впервые идентифицирован полиморфный вариант rs2302524 гена *PLAUR*, кодирующего рецептор урокиназного активатора плазминогена, как полиморфизм, достоверно связанный с менее тяжелым поражением легких по результатам компьютерной томографии у пациентов с диагностированным COVID-19. Уровень растворимой формы белка uPAR, продукта гена *PLAUR*, в сыворотке крови определен как независимый показатель, высокий уровень которого достоверно ассоциирован с более тяжелым поражением легких, обусловленным SARS-CoV-2. Дополнительно в работе проведена оценка прогностической значимости уровня растворимой формы uPAR в сравнении с широко используемыми факторами биохимического и коагулологического анализа крови.

Впервые для исследуемых генетических, биохимических и гемостатических параметров построена интегральная регрессионная модель, определяющая независимые показатели оценки и прогнозирования степени повреждения легких при COVID-19.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Результаты настоящей работы могут быть использованы для дальнейших исследований, направленных на выявление индивидуальных генетических особенностей пациентов, обуславливающих течение COVID-19. Ассоциация гетерозиготного генотипа варианта гена *PLAUR* rs2302524 с меньшим повреждением легких может быть принята во внимание как предиктор благоприятного развития заболевания, вызванного SARS-CoV-2, и использована для определения наилучшей терапевтической стратегии. Высокие уровни растворимого uPAR в крови могут быть использованы в качестве предикторов тяжелого течения COVID-19, что также способствует выбору оптимальной тактики лечения и улучшению результатов лечения пациентов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Гетерозиготный генотип TC полиморфного варианта гена рецептора урокиназы (*PLAUR*) rs2302524 независимо ассоциирован с менее тяжелым повреждением легких у пациентов с COVID-19.

2. Высокий уровень растворимой формы рецептора урокиназы uPAR (продукта гена *PLAUR*) связан с тяжелым повреждением легких при COVID-19; по прогностической способности уровень uPAR в сыворотке крови уступает концентрации С-реактивного белка, но сопоставим с уровнями фибриногена и D-димера.

3. Носительство варианта гена *PLAUR* rs2302524, ассоциированного с легкой степенью повреждения легких при COVID-19, не связано с уровнем растворимой формы uPAR в сыворотке крови.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследований определяется достаточным (репрезентативным) объемом выборки пациентов, качеством исследований, проведенных современными методами клинической лабораторной диагностики. Достоверность результатов подтверждена методами статистической обработки данных, адекватных поставленным задачам.

Материалы диссертационного исследования представлены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения — 2022: Молодые ученые — медицине. Технологическое предпринимательство как будущее медицины. SIMS — 2022: Samara International Medical Science» (Самара, 2022), II Российской конференции с международным участием «Фундаментальные исследования в эндокринологии: современная стратегия развития и технологии персонализированной медицины» (Новосибирск, 2022). По теме диссертации опубликовано 4 статьи, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в перечень ВАК РФ. Апробация работы проведена на

Факультете фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова 6 марта 2023 г.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка (192 источника литературы: 19 отечественных и 173 иностранных). Диссертация иллюстрирована 11 таблицами и 18 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Фибринолитическая система: ее компоненты и общие функции в организме

Основным компонентом фибринолитической системы является сериновая протеаза плазмин, которая образуется в результате активации его предшественника, плазминогена. Одной из перспективных мишеней для изучения механизмов развития пневмонии, системного воспаления и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания при COVID-19 является система активаторов плазминогена. У пациентов с тяжелым течением заболевания нарушение активности или экспрессии активаторов плазминогена коррелирует с внутрисосудистым свертыванием и тромбообразованием [16]. Одним из активаторов плазминогена в организме человека является урокиназный активатор плазминогена (урокиназа, uPA), опосредующий своё действия через рецепторы урокиназы (uPAR). Активируемый урокиназой плазмин в свою очередь сам активирует урокиназу, и этот процесс, по принципу положительной обратной связи, постоянно поддерживается в активированном состоянии, пока не происходит его истощение или снижение концентрация uPA и/или плазмينا. Плазмин является важным активатором фибринолиза в крови — процесса деградации полимеров фибрина, образующихся при свертывании крови [17]. Помимо регуляции гемостаза, система uPA/uPAR участвует в регуляции воспалительного ответа, пролиферации клеток, регенерации тканей, а также высоко экспрессируется в эпителии дыхательных путей, выполняя таким образом важную функцию при развитии острых воспалительных повреждений лёгких. Для поддержания физиологического баланса фибринолитическая система регулируется ингибиторами сериновых протеаз (серпинами). Так, ингибитором превращения плазминогена в плазмин является ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), в то время как α 2-антиплазмин ингибирует уже активный плазмин, связываясь с его растворимой фракцией и препятствуя тем самым его протеолитической

активности. В физиологических условиях активаторы и ингибиторы находятся в состоянии равновесия, которое нарушается при попадании в организм инфекционных агентов, в том числе SARS-Cov-2.

Имеющиеся на сегодняшний день исследования, описывающие нарушения коагуляции у пациентов с COVID-19, отличаются различным дизайном и лабораторными методами, однако практически все они отмечают увеличение числа тромбозов и тромбоэмболических осложнений на фоне гиперкоагуляции и, возможно, недостаточного фибринолиза. У пациентов даже в молодом возрасте наблюдаются тромбозы поверхностных и глубоких вен, артерий, сосудов микроциркуляторного русла, приводящие к ишемическим инсультам, инфарктам сердца и лёгких, острому респираторному дистресс синдрому, острой почечной недостаточности [18].

С другой стороны, активаторы плазминогена, урокиназа и ее рецептор uPAR, а также сам плазмин, могут способствовать инфицированию клеток вирусом за счет протеолиза S-белка и связывания его с АПФ2, и, тем самым, провоцировать развитие тромбозов легочных сосудов в результате истощения пула плазмина и накопления D-димеров фибрина [16]. АПФ2 (Ангиотензин-превращающий фермент 2) представляет собой трансмембранный белок, участвующий в конвертации ангиотензина I в ангиотензин 1-9 и ангиотензина II в ангиотензин 1-7, обладающий вазодилатирующими свойствами. Ген АПФ2, кодирующий одноимённый белок, расположен на X-хромосоме и включает 18 экзонов, кодирующих 805 аминокислот белка АПФ2 [19]. Пандемия COVID-19 привела к появлению большого количества исследований, посвящённых АПФ2, так как данный белок оказался основным рецептором, необходимым для проникновения SARS-Cov-2 в клетки организма [20].

Несмотря на большое количество работ, посвящённых особенностям течения COVID-19, на сегодняшний день данные, касающиеся генетических аспектов заболевания, связанных с полиморфизмом ответственных за фибринолиз генов, существенно ограничены. В связи с этим основное внимание уделяется именно

клинико-лабораторным аспектам заболевания, где рассматриваются и оцениваются отдельные участники фибринолитической системы.

1.1.1. Урокиназный активатор плазминогена и его рецептор

Урокиназный активатор плазминогена (урокиназа, uPA) – это белок, относящийся к классу сериновых протеаз, кодируемый геном *PLAU* на 10-й хромосоме. Урокиназа синтезируется эндотелиальными и гладкомышечными клетками, моноцитами и макрофагами [21, 22]. Белок uPA состоит из трёх доменов: «ростового» домена, гомологичного эпидермальному фактору роста GFD, крингл-домена и протеолитического домена. Протеолитический домен расщепляет плазминоген, переводя его в плазмин. N-концевой домен GFD этого белка отвечает за взаимодействие с рецептором – uPAR, с дальнейшим запуском системы внутриклеточных сигналов. [23] Рецептор урокиназного активатора плазминогена является гликозилфосфатидилинозитол-заякоренным в клеточной мембране белком, кодируется геном *PLAUR*, локализованным в 19 хромосоме. Молекула белка состоит из 3 доменов, все три домена необходимы для высокоафинного связывания с основным лигандом урокиназой [24]. После взаимодействия с uPAR протеолитический домен урокиназы запускает протеолитический каскад для деградации компонентов внеклеточного матрикса и фибриновых сгустков путём активации плазминогена после связывания [2, 25]. Накопленные данные о роли uPA и uPAR в сосудах говорят о том, что функции урокиназной системы выходят за пределы фибринолиза. Система uPA/uPAR функционирует в межклеточном пространстве, способствует ремоделированию матрикса и играет решающую роль в клеточной адгезии, пролиферации, выживании и миграции [26]. Было показано, что связывание uPA с uPAR на мембране клеток сосудов вызывает запуск внутриклеточной сигнализации с участием митоген-активируемых протеинкиназ, индукцию экспрессии НАДФ-оксидаз, которые увеличивают продукцию активных форм кислорода и оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию клеток,

хемотаксис нейтрофилов, а также транс-дифференцировку фибробластов в миофибробласты [27].

Фибринолитическая активность uPA успешно применяется в клинической практике для проведения тромболитика [28]. На сегодняшний день уже описан случай успешного локального тромболитика с использованием активатора плазминогена тканевого типа (tPA) у пациента с тромбоэмболией лёгочной артерии на фоне COVID-19 [29]. Аналогичным образом действует и uPA, однако случаев его применения для тромболитика при COVID-19 на сегодняшний день не описано.

Изменения экспрессии uPAR и uPA могут приводить к нарушению реологических свойств крови и смещению равновесия либо в сторону гипо- или гиперфибринолитического состояния. При этом важное значение имеет генетическая модуляция данных изменений, связанная, в первую очередь, с различными полиморфными вариациями кодирующих uPAR и uPA генов (*PLAUR* и *PLAU* соответственно).

Генетический полиморфизм генов урокиназного активатора плазминогена и его рецептора

В гене *PLAU*, кодирующем урокиназный активатор плазминогена, обнаружено значительное число однонуклеотидных полиморфизмов. Так, показано, что полиморфизм *PLAU* rs2227564 (P141L) ассоциирован с обеднённым коллатеральным кровотоком коронарных артерий, что является фактором риска развития ишемической болезни сердца [30]. Показана ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов rs2227564 (P141L) и rs2227566 с астмой ($p = 0,011$ и $0,045$ соответственно) и с гиперреактивностью дыхательных путей ($p = 0,026$ и $0,038$ соответственно) в исследовании, в рамках которого были генотипированы 12 однонуклеотидных полиморфных вариантов гена *PLAU* [31]. Кроме того, метаанализ, включающий 27 исследований, показал, что аллель rs2227564 в гене *PLAU* увеличивает риск развития болезни Альцгеймера [20]. В исследовании Stewart С.Е. и др. были генотипированы 25 однонуклеотидных полиморфных варианта гена *PLAUR* у пациентов с ХОБЛ и у лиц с курением в

анамнезе. В результате rs2302524 (Lys220Arg) и rs2283628 (интрон 3) были связаны с исходной функцией легких у курильщиков. Полиморфный вариант *PLAUR* rs740587 продемонстрировал защитный эффект в отношении предрасположенности к ХОБЛ, а rs11668247 продемонстрировал защитный эффект в отношении тяжести ХОБЛ [33]. Помимо этого, полиморфные вариации *PLAUR* и *PLAU* ассоциированы с возникновением ряда онкологических заболеваний, среди которых рак лёгких, эндометрия шейки матки, рак яичников, колоректальный рак, рак груди [34]. Также показана ассоциация полиморфизма генов урокиназного активатора плазминогена и его рецептора с критериями нестабильности атеросклеротических поражений [35]. Генетический полиморфизм uPA rs4065 C/T и uPAR rs344781 (-516 T/C) связаны с восприимчивостью и тяжестью немелкоклеточного рака легкого [36].

Компоненты урокиназной системы в оценке и прогнозировании тяжести течения COVID-19

Российскими учеными показана возможность применения компонентов урокиназной системы как оптимальных дифференциально-диагностических маркеров в онкодиагностике [37, 38]. Клинические исследования, посвящённые изучению вклада системы uPA/uPAR в патогенез COVID-19, довольно неоднозначны. Так, в работе Alan E. Mast и др. (2021) была исследована транскрипционная активность генов, которые могут способствовать локальному и системному нарушению гемостаза. Было установлено, что уровень экспрессии мРНК uPA и её рецептора uPAR у пациентов с тяжёлой формой SARS-Cov-2 был в 37,1 и 42,1 раза ниже по сравнению с контрольной группой без сопутствующего COVID-19 [39].

Дальнейшие исследования системы uPA/uPAR были сконцентрированы на детальном изучении uPAR, а именно, его растворимой формы (suPAR), образующейся за счёт гидролиза связи в гликозилфосфатидилинозитольном якоре, связывающем uPAR с мембраной клеток. Увеличение сывороточной концентрации suPAR происходит, как правило, при чрезмерном разрушении или обновлении

клеток, что характерно для неопластических процессов [40]. Также растворимые формы uPAR появляются благодаря урокиназо-зависимому слущиванию (shedding) uPAR с мембраны клетки [41]. suPAR имеет три циркулирующие в системном кровотоке формы suPAR DII-III, suPAR DI, и suPAR DI-III. Последний рассматривается в качестве активной формы рецептора, так как может связывать циркулирующие uPA [42]. В связи с относительной простотой измерения сывороточной концентрации suPAR именно она используется в качестве маркера тяжести течения заболевания в большинстве клинических исследований.

Вирус SARS-Cov-2 вызывает системные поражения в организме, в том числе с увеличением тяжести поражения легких при COVID-19 возрастает и частота поражения почек [43]. Для пациентов, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) по причинам сепсиса, острой почечной недостаточности (ОПН), дыхательной недостаточности, вызванных как SARS-Cov-2, так и другими инфекционными и неинфекционными агентами в работе Alexander C. Reisinger и др. (2021) была изучена прогностическая функция suPAR [44]. Было установлено, что уровень suPAR был значительно ниже у выживших пациентов (6,7 нг/мл) по сравнению с пациентами с летальным исходом (11,6 нг/мл, $p = 0,0003$). После проведения анализа выживаемости для 2-х групп пациентов (выше и ниже медианы по suPAR) было показано, что при концентрации suPAR ≤ 8 нг/мл общая выживаемости в течение 3-месячного периода наблюдения составила 69,75%, в то время как при suPAR > 8 нг/мл – 49,15% ($p = 0,0008$). Аналогичная тенденция наблюдалась и для групп с уровнем suPAR ≥ 12 нг/мл и < 12 нг/мл. Процент выживаемости в изучаемых группах составил 49,35% и 64,38% соответственно ($p = 0,027$). Помимо этого, было показано, что у пациентов с подтвержденной инфекцией COVID-19 концентрация suPAR была значительно выше, чем у пациентов без таковой (11,7 нг/мл и 7,4 нг/мл соответственно, $p = 0,009$) [44]. Для определения предиктивной функции suPAR для однородной группы пациентов с COVID-19 Nikoletta Rovina и др. (2020) была проведена работа, где у 57 пациентов, поступивших в госпиталь с подтвержденным COVID-19, в течение первых 24 часов были взяты образцы крови с последующим проведением

иммуноферментного анализа на suPAR. Было показано, что у пациентов с развившейся в течение последующих 14 дней острой дыхательной недостаточностью (ОДН) концентрация suPAR при поступлении в стационар была значительно выше по сравнению с пациентами без ОДН. Концентрация suPAR 6 нг/мл и более была признана наилучшим предиктором развития ОДН в течение 2-недельного периода наблюдения, что было подтверждено однофакторным и многофакторным регрессионными анализами и ROC-анализом. При этом ОДН у таких пациентов развивалась не только в 17 раз чаще (Отношение рисков (OR) = 17,1; 95%ДИ: 4,9-59,1), но и быстрее чем у пациентов с уровнем suPAR ниже 6 нг/мл [45]. Похожее исследование было проведено David T. Arnold и др. (2021) уже с увеличенной до 187 человек выборкой. У поступивших на стационарное лечение пациентов с COVID-19 среди всех показателей крови максимальная клиническая значимость в прогнозировании тяжести течения COVID-19 при проведении ROC-анализа принадлежала suPAR (площадь под ROC-кривой (AUC) = 0,81, чувствительность и специфичность 82% и 65% соответственно). Аналогичные данные были получены в результате регрессионного анализа (OR = 13,98, 95%ДИ: 5,22-44,4, $p = 0,0000$) [46].

В исследовании Tariq U. Azam и др. (2020) было показано, что повышенная концентрация suPAR у госпитализированных с COVID-19 пациентов ассоциирована с острым повреждением почек (ОПП) во время пребывания в стационаре. В ходе эксперимента у 352 пациентов в первые 48 часов после поступления в стационар был выполнен анализ крови на suPAR. Показано, что у пациентов без ОПП концентрация suPAR при поступлении составляла 5,05 нг/мл, в то время как в группе с ОПП концентрация была на 61,6% выше и составляла 7,38 нг/мл ($p < 0,001$). В ходе исследования пациенты были разделены на три равные группы в зависимости от концентрации suPAR. Было показано, что с возрастанием уровня suPAR вероятность развития ОПП увеличивалась с 6% до 45,8%. При проведении регрессионного анализа было установлено, что в однофакторной модели при концентрации suPAR в пределах 2-го тертиля (4,6-6,86 нг/мл) и 3-го тертиля вероятность развития ОПП возрастает в 5,42 раза (95%ДИ: 2,27-12,93) и в

13,26 раз (95%ДИ: 5,69-30,88) по сравнению с группой 1-го тертиля (suPAR < 4,6 нг/мл) соответственно. Аналогичная тенденция сохранялась при корректировке моделей в зависимости от возраста, пола, расы, скорости клубочковой фильтрации и уровня С-реактивного белка. Помимо этого, было показано, что при более выраженных нарушениях функции почек у пациентов с COVID-19 наблюдается более высокая концентрация suPAR. Среди пациентов, требующих проведение гемодиализа, была выявлена сильная положительная корреляционная взаимосвязь между уровнем suPAR и длительностью проведения заместительной почечной терапии ($R = 0,74$; $p < 0,001$) [47].

В работе Mingxiang Huang и др. (2020) была изучена концентрация активной формы suPAR (suPAR DI-III) у пациентов с различными симптомами COVID-19. По результатам работы у всех пациентов с SARS-Cov-2 концентрация suPAR была значительно выше, чем в контрольной группе здоровых добровольцев (5,51 нг/мл и 1,97 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). При этом впервые было показано, что у пациентов с бессимптомным течением SARS-Cov-2 уровень активной формы suPAR (8,08 нг/мл) не только значительно превышает данный параметр в группе здоровых добровольцев ($p < 0,0001$), но и существенно выше, чем у пациентов с симптомами COVID-19 ($p = 0,0278$). На основании полученных данных исследователями было высказано предположение о необходимости раннего выявления пациентов с высокими концентрациями активной формы suPAR с целью дальнейшего активного наблюдения за такими пациентами, что может помочь предотвратить неконтролируемую передачу вируса. При разделении пациентов в зависимости от тяжести течения COVID-19 было показано, что концентрация растворимой формы uPAR повышается по мере утяжеления заболевания, однако, у тяжело и критически больных пациентов различия концентраций исследуемого маркера оказались незначимыми [48].

С целью более детального понимания механизмов, вовлечённых в течение COVID-19, было проведено исследование Sanne de Bruin и др. (2021). Была изучена прогностическая функция 64 биомаркёров, потенциально вовлечённых в патогенез

заболевания. 136 обследуемых пациентов находились на лечении в общей палате, в то время как 119 – в ОРИТ. У выживших пациентов, находящихся в ОРИТ, концентрация uPAR была значительно ниже в течение всего периода лечения, в то время как летальный исход в ОРИТ был ассоциирован с постоянной повышенной концентрацией uPAR. При проведении регрессионного анализа было установлено, что изменение в концентрации uPAR, скорректированное по полу и возрасту является значимыми предикторами неблагоприятного исхода COVID-19 как для пациентов, находящихся в общей палате, так и для пациентов в палате интенсивной терапии. При дополнительной коррекции предиктивной функции изучаемого маркера с учетом ИМТ было установлено, что помимо повышенной концентрации suPAR, в качестве предиктора неблагоприятного исхода инфекции SARS-Cov-2 у пациентов, находящихся в общей палате, выступает повышенная концентрация uPA, однако аналогичной тенденции для пациентов в ОРИТ не наблюдалось. На основании полученных результатов исследователями было доказано, что ухудшение состояния госпитализированных с COVID-19 пациентов включает в себя несколько путей, одним из которых является дисфункция эндотелия [49]. В сентябре 2021 года была выпущена похожая работа Vuğra Kergel и др. [50], где было показано, что уровень suPAR при поступлении в госпиталь у пациентов с подтвержденным COVID-19 оказался значительно выше, чем у пациентов контрольной группы здоровых добровольцев, что подтверждает полученные ранее результаты. Однако при группировке пациентов в зависимости от тяжести инфекции было выявлено, что при средней степени тяжести заболевания концентрация suPAR при поступлении в стационар значительно выше, чем при тяжелой (8,4 нг/мл и 5,5 нг/мл соответственно, $p = 0,001$), что противоречит концепции более ранних исследований. В качестве возможного объяснения полученных данных было высказано предположение о низкой скорости регенерации тканей и снижении иммунного потенциала у тяжелобольных пациентов, что проявляется снижением поступления растворимой формы uPAR с поверхности клеток в системный кровоток, в то время как при средней тяжести заболевания на фоне постоянного обновления клеток происходит повышение

уровня suPAR в кровяном русле [50]. Таким образом, наметившаяся на сегодняшний день тенденция свидетельствует о неблагоприятном прогнозе COVID-19 на фоне повышенной концентрации suPAR [51, 52], что может быть связано с чрезмерным разрушением клеток, в том числе эндотелиальных, на фоне воспалительного процесса, еще более усиливающегося под действием растворимой активной формы suPAR. Несмотря на то, что авторы показали доказательную взаимосвязь между высоким содержанием suPAR в крови и развитием осложнений, молекулярный механизм участия suPAR в патогенезе COVID-19 остается не изученным.

Тканевой активатор плазминогена

Тканевой активатор плазминогена (tPA) – это сериновая протеаза, катализирующая превращение плазминогена в плазмин, таким образом способствующая фибринолизу. Основа этой сети также представляет собой каскад с петлями положительной обратной связи, который в конечном итоге превращает неактивный предшественник фермента в серинпротеазу плазмин, способную расщеплять молекулы фибрина [53]. Таким образом, tPA действует аналогично uPA, а также играет роль в миграции клеток, ремоделировании тканей и влияет на ряд физиологических и патологических функций в центральной нервной системе [54]. Ген *PLAT*, кодирующий tPA, расположен в 8 хромосоме. В гене *PLAT* идентифицирован полиморфизм, связанный с уровнем циркулирующего tPA. Минорная T-аллель полиморфизма *PLAT* -7351CT (rs2020918) ассоциирована с 50%-ным уменьшением сосудистой секреции tPA после стресса. Обнаружено 2,5-кратное увеличение риска сердечно-сосудистых заболеваний и более чем 3-кратное увеличение риска развития инфаркта миокарда, ассоциированное с T-аллелью rs2020918 [55]. Выявлена значительная связь между тяжестью инсульта и полиморфизмом *PLAT* rs63020761 в гомозиготном генотипе [56]. Однонуклеотидный полиморфизм *PLAT* -7351CT находится в области энхансера, которая содержит сайт связывания транскрипционного фактора Sp1. Замена C на T в сайте rs2020918 снижает сродство транскрипционного фактора Sp1 к этому сайту,

что является механизмом, посредством которого полиморфизм -7351СТ ассоциирован с низкой транскрипцией гена *PLAT* [55, 57]. Мета-анализ геномных ассоциативных исследований (genome-wide association studies, GWAS) позволил обнаружить полиморфные варианты в гене *PLAT* rs2020921 (A/G/T) и rs3136739 (A/G), изменяющие уровень циркулирующего tPA [58].

По результатам измерения тканевого активатора плазминогена оказалось, что его содержание в сыворотке у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми добровольцами было значительно повышено (среднее \pm стандартное отклонение 78 ± 68 против $2,4 \pm 2,6$ нг/мл, $p < 0,0001$) [59]. В другом исследовании сывороточные показатели tPA были повышены не только у больных COVID-19, но и при респираторной вирусной инфекции ($p < 0,001$ и $p < 0,05$, соответственно) по сравнению со здоровыми добровольцами [60], что может указывать на неспецифические механизмы повышенного содержания tPA в плазме при вирусных нагрузках. Эти же авторы указывают на отрицательную связь между эффективностью оксигенации и сывороточной концентрацией tPA ($r = -0,19$, $p = 0,04$). Значительно более высокие уровни tPA ($p = 0,0003$) наблюдались среди умерших пациентов с COVID-19 по сравнению с выписанными. Таким образом, высокие уровни tPA были связаны с ухудшением респираторного статуса и плохими клиническими исходами; в частности, высокие уровни tPA были тесно связаны с высоким риском смертности при COVID-19 [59]. В работе Marchetti M и др. (2022) для группы, состоящей из 101 пациента, со средним возрастом 67 лет с помощью однофакторного регрессионного анализа Кокса обнаружено, что высокие сывороточные уровни tPA (OR = 1,091; 95%ДИ: 1,016–1,171; $p = 0,016$) были в значительной степени связаны с развитием тромбоза. После стратификации пациентов по 25-му (4 нг/мл) и 75-му (32 нг/мл) перцентилем распределения значений tPA в когорте пациентов COVID-19 были выделены три группы лиц с разным тромботическим риском по выживаемости Каплана-Мейера. В частности, кумулятивная частота тромбозов составила 0% для пациентов с низким риском ($tPA \leq 4$ нг/мл), 8% (95%ДИ: 2,7–18%) для промежуточных (tPA : от 4 до 32 нг/мл) и 34% (95% ДИ: 6,9–62%) для группы высокого риска ($tPA \geq 32$ нг/мл) [61].

Данные в отношении uPA немногочисленны и неоднозначны. Было показано, что в бронхоальвеолярном лаваже у больных COVID-19 пациентов уровень экспрессии uPA снижен [39], что указывает на недостаточность фибринолитической активности системы uPA/uPAR на фоне COVID-19. В связи с этим, следующим этапом для идентификации ключевых диагностических критериев нарушения гемостаза является детальное понимание роли системы ингибиторов, в частности ингибитора активаторов плазминогена PAI-1, в патогенезе COVID-19.

1.1.2. Ингибитор активатора плазминогена 1 типа

Ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) является основным ингибитором фибринолитической системы. Белок PAI-1 представляет собой ингибитор сериновой протеазы, в частности uPA, подавляющий протеолитическую и фибринолитическую активность системы uPA/uPAR. Ген ингибитора активатора плазминогена 1 типа – *SERPINE1* локализован в хромосоме 7. PAI-1 синтезируется и секретируется в кровь эндотелием сосудов, фибробластами, гладкомышечными клетками, гепатоцитами [62, 63]. Генетически заложенные особенности функционирования PAI-1, связанные в том числе с полиморфными вариантами кодирующего PAI-1 гена, *SERPINE1*, могут быть ответственны за изменение фибринолитической активности, которая, как правило, снижается на фоне COVID-19 [64].

Генетический полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена

В гене *SERPINE1*, кодирующем PAI-1, идентифицированы следующие однонуклеотидные полиморфизмы: инсерция/делеция гуаноина в позиции -675 (4G/5G, rs1799889), -844GA (rs2227631), с.43GA (rs6092) и p.I17V (rs6090), которые изменяют концентрацию PAI-1 в плазме крови [65]. Наиболее изученным вариантом полиморфизма гена *SERPINE1* является инсерционно-делеционный полиморфизм rs1799768 в позиции -675 промоторной области, влияющий на скорость транскрипции и уровень PAI-1 в плазме крови [66]. Аллель 5G имеет

серию из пяти нуклеотидов G в области промотора, делеция одного нуклеотида приводит к аллельному варианту 4G. Этот вариант гена, кодирующего PAI-1, как было показано, ассоциирован с повышенным риском ИБС [67], наличием СД второго типа [68], развитием инфаркта миокарда [69] и волчаночного нефрита [70]. Различия в фенотипических проявлениях генотипа PAI-1 обусловлены тем, что с вариантом гена 5G может связываться как активатор, так и ингибитор транскрипции, в то время как с вариантом промотора гена 4G – только активатор транскрипции [14]. В результате вариант гена 5G, легко включается и легко выключается, а ген 4G легко включается, но плохо выключается. Таким образом, в гомозиготном состоянии *SERPINE1* 4G/4G происходит гиперэкспрессия и повышенная концентрация белка PAI-1, что приводит к гипофибринолитической активности и, соответственно, повышению риска тромбозов. Уже убедительно доказано, что риск венозных тромбозов в случае генотипа 4G/4G или 4G/5G в 6,35 и 4,85 раз соответственно выше, чем у пациентов, гомозиготных по нормальному фибринолитическому варианту гена 5G [14].

Подобно степени разработанности темы в части системы uPA/uPAR, данные о вкладе полиморфных вариантов гена, кодирующего PAI-1, в течение COVID-19 существенно ограничены. Так, в феврале 2021 года была опубликована работа, описывающая нарушение плацентарного кровоснабжения, вызванное SARS-CoV-2, у пациентки с полиморфизмом *SERPINE1* rs1799768, которое исследователи связывают именно с возможным взаимодействием SARS-Cov-2 и PAI-1. Авторы утверждают, что трансплацентарная передача SARS-CoV-2 может вызывать воспаление плаценты, ишемию и неонатальную вирусемию с такими осложнениями, как преждевременные роды и повреждение плацентарного барьера у пациенток с полиморфизмом rs1799768. [71]. Частота встречаемости гетерозиготы *SERPINE1* 4G/5G в популяции составляет 50% и убедительных данных о его влиянии на течение беременности на сегодняшний день нет. Однако известно, что наличие аллельного варианта гена 4G ассоциировано с повышенной активностью PAI-1. Таким образом, на фоне заражения COVID-19 и дальнейшего персистирования вируса в плаценте и тканях плода повышенная активность PAI-1 при

полиморфизме rs1799768 могла привести к пониженной фибринолитической активности и множественным тромбозам [71].

Полученный вывод был подтверждён в исследовании Anna Annunziata и др. (2021), в котором изучалась роль генетического полиморфизма *SERPINE1* rs1799768 в течении COVID-19 [72]. У 20 пациентов с тяжёлым течением COVID-19, находящихся в ОРИТ, и у 19 пациентов контрольной группы здоровых добровольцев было проведено генетическое тестирование ассоциированного с тромбофилией полиморфизма, среди которых был *SERPINE1*: -675 4G/5G. Было показано, что у пациентов с SARS-Cov-2 и без гомозиготный генотип 5G/5G встречался практически с одинаковой частотой (15% и 10,5% соответственно, $p = 1,000$). Генотип 4G/5G был более распространён в группе здоровых добровольцев, что статистически значимо превышало количество гетерозиготных вариантов *SERPINE1* у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 (84,21% и 40% соответственно, $p = 0,008$). Обратная тенденция была обнаружена для генотипа 4G/4G. Среди пациентов с COVID-19 генотип 4G/4G встречался в 45% случаев, в то время как среди здоровых добровольцев – всего в 5,3% ($p = 0,008$), однако результаты данного исследования ограничены малым размером выборки [72]. Похожие данные в отношении генотипа 4G/4G были получены в работе отечественных исследователей для пациентов с тромбозами в анамнезе, у которых гомозиготный генотип 4G/4G встречался в 51% случаев, что статистически значимо превышало аналогичный показатель в группе здоровых добровольцев (4,2%, $p < 0,0001$) [73]. Профилактика подобных осложнений заключается в их своевременной диагностике, в результате чего для пациентов с заранее известными генетическими вариантами основных регуляторов гемостаза будет применяться особый подход. Заподозрить имеющиеся генетические особенности можно лишь на основании клинических данных, которые, в отличие от генетических, представлены в литературе в достаточном для анализа количестве.

Ингибитор активатора плазминогена как фактор оценки и прогнозирования тяжести COVID-19

Активность PAI-1 по данным исследования Tsantes A.E. и др. (2020) у пациентов с COVID-19, находящихся в ОРИТ, была хоть и выше, но статистически сопоставима с данным показателем у пациентов с более лёгким течением COVID-19 (2,7 Ед/мл и 1,4 Ед/мл соответственно, $p = 0,07$) [74]. Похожие данные в отношении PAI-1 и плазминогена были получены в немецкой [75] и французской [76] работах, выпущенных в 2021 году. Несмотря на это, результаты большинства проведённых на сегодняшний день исследований не совсем согласуются с такими выводами. Так, показано, что клетки пациентов с тяжёлым течением SARS-Cov-2, полученные путём бронхоальвеолярного лаважа, экспрессируют PAI-1 в значительно большем количестве, чем клетки здоровых добровольцев [39, 77]. В исследовании в условиях *in vitro* с использованием культуры эндотелиальных клеток человека показало, что совместное культивирование с S-белком SARS-Cov-2 приводит к увеличению концентрации PAI-1 уже в первые 24 часа, что, таким образом, повышает риск тромбообразования уже на начальных стадиях заболевания [78]. В клиническом исследовании *in vivo* Michaël Hardy и др. (2020) активность PAI-1 измерялась у 21 пациента в ОРИТ ежедневно на протяжении 21 дня. Была отмечена временная повышенная активность PAI-1, постепенно снижающаяся по мере улучшения клинического состояния пациентов [79], что также было показано и в другой работе этой же группы исследователей [80]. В исследовании Claire S. Whyte и др. (2022) при анализе показателей PAI-1 и витронектина в сыворотке оказалось, что оба этих белка значительно повышены у пациентов с COVID-19 по сравнению как со здоровым контролем ($p < 0,001$), так и при респираторной инфекции, отличной от COVID-19 ($p < 0,01$), и при этом высокий уровень PAI-1 вызывает гипофибринолитическое состояние у пациентов с COVID-19. Этими же авторами было показано, что высокий уровень PAI-1 подавляет выработку плазмина, а также угнетает фибринолиз при COVID-19, несмотря на сопутствующее увеличение tPA [60]. Группой российских ученых (А. М. Shibeko и др.) в 2020 году показано, что концентрация PAI-1 контролировала

как степень распространения лизиса, так и форму пространственного распределения фибрина во время лизиса. Обнаружено, что PAI-1 оставался важным фактором фибринолиза даже тогда, когда его концентрация была на порядок ниже концентрации tPA из-за его роли на границе диффундирующего фронта tPA [81].

В работе Alexander B. Pine и др. (2020) также было показано, что повышенный уровень PAI-1 в сыворотке крови ассоциирован с неблагоприятным прогнозом COVID-19. Установлено, что выживаемость пациентов с концентрацией PAI-1 выше 50,605 нг/мл значительно ниже, чем у пациентов с более низкими значениями ($p=0,038$). Повышенная концентрация PAI-1 была ассоциирована с более тяжёлым течением COVID-19 и для всех пациентов была значительно выше, чем в контрольной группе здоровых добровольцев [82, 83]. Похожие данные были получены и в работе Yu Zuo и др. (2021) [59], где для пациентов с SARS-Cov-2 была характерна повышенная концентрация PAI-1 по сравнению с группой здоровых добровольцев, выявлена достоверная корреляция между уровнями PAI-1 и tPA среди пациентов с COVID-19 ($r = 0,52$, $p < 0,0001$). Одновременно с этим повышенный уровень PAI-1 наблюдался у пациентов, требующих респираторной поддержки, в то время как у пациентов без дополнительной кислородной поддержки уровень PAI-1 был ниже. Кроме того, повышенный уровень PAI-1 был более характерен для умерших от COVID-19 пациентов, оставаясь более низким при благоприятном исходе заболевания [83].

Аналогичные данные были получены в исследовании Sandra Lopez-Castaneda и др. (2021), где наибольшая концентрация PAI-1 (1223,5 нг/мл), измеренная в первые 48 часов пребывания в стационаре, наблюдалась у пациентов с летальным исходом, постепенно снижаясь до 713,3 нг/мл в случае тяжёлой инфекции и до 465,2 нг/мл при более лёгких формах, что в каждом случае было значительно выше, чем у здоровых добровольцев (183,7 нг/мл, $p < 0,001$) [84]. Повышенная активность PAI-1 была характерна для пациентов в ОРИТ по сравнению с группой здоровых добровольцев (4,92 Ед/мл и 1,28 Ед/мл соответственно) [64], что было также

доказано в ряде других исследований, где для пациентов, попадающих в отделение реанимации, характерна высокая концентрация PAI-1 [85-92].

Полученные в отношении PAI-1 данные подтверждают наличие сниженной фибринолитической активности у пациентов с COVID-19, что создаёт определённые предпосылки для создания таргетных препаратов. Так, в США запущено клиническое исследование по изучению влияния ингибитора PAI-1 на течение коронавирусной инфекции, основной целью которого является снизить количество тяжёлых форм COVID-19 (TM5614; www.clinicaltrials.gov NCT 04634799). Основная идея заключается в том, что в отличие от антикоагулянтов, таких как низкомолекулярные гепарины, целенаправленное ингибирование PAI-1 может иметь большие перспективы в качестве нового терапевтического варианта для улучшения исходов после тромбоза, учитывая имеющиеся данные, подтверждающие многогранную роль PAI-1 в заболеваемости COVID-19.

В ноябре 2021 года был опубликован мета-анализ, показывающий, что повышенная концентрация PAI-1 ассоциирована с неблагоприятным исходом COVID-19, в числе которых перевод в ОРИТ, тяжёлое течение заболевания, ухудшение респираторного статуса, необходимость искусственной вентиляции лёгких и летальный исход. Всего в этот анализ было включено 1187 пациентов из 17 исследований [93]. Разобранные в данном обзоре единичные клинические исследования 2021 и 2022 года полностью подтверждают результаты этого мета-анализа.

Однако, российскими учеными в результате одноцентрового ретроспективного исследования, проведенное на когорте из 52 взрослых пациентов с подтвержденной инфекцией SARS-CoV-2, поступивших в отделение реанимации и интенсивной терапии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва с апреля по июль 2020 года, сниженный PAI-1 был определен как значимый и независимый фактор риска смерти, связанной с COVID-19. Авторы предполагают, что объяснение сниженного содержания PAI-1 у пациентов в критическом

состоянии может заключаться в компенсации гиперактивации системы активатора плазминогена, отражающей истощение ингибиторов плазмина [94].

Таким образом, полученные данные в большинстве работ свидетельствуют о том, что при COVID-19 концентрация PAI-1 достоверно растёт, и это ассоциировано с гипофибринолизом и гиперкоагуляцией независимо от уровней содержания в сыворотке uPA и растворимого uPAR.

1.1.3. Плазминоген и плазмин

Плазминоген является неактивным предшественником главной сериновой протеазы фибринолитической системы плазмина, способного протеолизировать фибрин с образованием продуктов деградации, способствуя растворению фибринового сгустка. Плазмин имеет низкую субстратную специфичность и при свободной циркуляции в крови разрушает несколько белков, включая фибриноген, фактор V и фактор VIII [95]. Система плазминоген/плазмин, помимо тромболитика, играет важную физиологическую и патологическую роль в ряде других жизненно-важных процессах: деградации внеклеточного матрикса, эмбриогенезе, миграции клеток, ремоделировании тканей, заживлении ран, ангиогенезе, воспалении и миграции опухолевых клеток [96]. Белок фибриноген кодируется геном *PLG* на 6-й хромосоме. Основную роль в синтезе плазминогена играют клетки печени, также отмечена выработка фибриногена в клетках надпочечников, почек, мозга, сердца, лёгких, матки, селезёнки, тимусы, пищеварительного тракта [97]. Генетическая предрасположенность к повышенной выработке плазминогена может играть определённую протективную роль в течении COVID-19, способствуя фибринолизу. Однако данные по генетическим аспектам данного вопроса весьма ограничены, основное внимание уделяется клиническим наблюдениям.

Также для оценки взаимосвязи активности и концентрации плазминогена с особенностями течения COVID-19 важно понимание роли плазмина на ранних стадиях патогенеза SARS-CoV-2. Несмотря на то, что опосредованное плазмином ремоделирование внеклеточного матрикса является крайне важным этапом в

регенерации легочной ткани, нарушение этого процесса может сместить баланс в сторону активации процессов фиброза, особенно в связи с патогенезом респираторной коронавирусной инфекции, т.к. решающую роль в проникновении вируса внутрь клетки играет плазмин-зависимый протеолиз вирусного S-белка [98].

Взаимосвязь концентрации плазминогена с тяжестью течения COVID-19

Группой исследователей под руководством Ganeem K. Juneja и др. в 2021 году было проведено ежедневное измерение показателей гемостаза у пациентов с COVID-19. Обнаружено, что концентрация плазминогена у пациентов с COVID-19 значительно ниже, чем в группе здоровых добровольцев; PIC (плазмин-ингибиторный комплекс) статистически значимо не отличался, в то время как уровень PAI-1 был значительно повышен [86]. При сравнении показателей для выживших пациентов и пациентов с летальным исходом было показано, что практически во всех временных точках у выживших пациентов концентрация PAI-1 меньше (как и было показано ранее), в то время как концентрация плазминогена выше, что говорит о лучшей фибринолитической активности системы, способной переводить большее количество плазминогена в активный плазмин с последующим растворением фибриновых сгустков [86].

Тем не менее данные относительно предиктивной функции плазминогена неоднозначны. Так, по результатам исследования Chrysi Keskinidou и др. (2021) для выживших после COVID-19 пациентов, наоборот, был характерен пониженный уровень сывороточного плазминогена по сравнению с группой неблагоприятного исхода [99].

Исследование, посвящённое непосредственно изучению концентрации сывороточного плазминогена у пациентов с COVID-19, было проведено в 2020 году под руководством Brandon Michael Henry [100]. Согласно представленным данным, при поступлении в ОРИТ пациентов с подтвержденным COVID-19 и без статистически значимых различий в отношении концентрации плазминогена обнаружено не было. Однако после стабилизации клинического состояния и

выписки пациентов с COVID-19 из реанимации было отмечено значимое увеличение уровня циркулирующего плазминогена (0,13 г/л и 0,15 г/л соответственно; $p = 0,027$). Помимо этого, у исследуемых пациентов, попадающих при поступлении в общую палату, уровень плазминогена также выше, чем у пациентов, поступающих в реанимацию (0,14 г/л и 0,12 г/л соответственно; $p = 0,048$), что может указывать на прогностически благоприятную роль повышенного плазминогена на течение COVID-19 [100].

Однофакторный регрессионный анализ показал, что у пациентов с COVID-19 и уровнем плазминогена ниже 80%, риск летального исхода был в 12,57 раз выше, чем для пациентов с уровнем плазминогена более 80% (95% ДИ = 2,47-64, $p < 0,002$). Данные были подтверждены и в ходе многофакторного регрессионного анализа с поправкой на пол, возраст и концентрацию D-димера: риск летального исхода при уровне плазминогена меньше 80% был в 12,68 раз выше, чем при уровне плазминогена более 80% (95% ДИ = 1,69-95,06, $p = 0,013$). В результате уровень плазминогена был признан независимым предиктором летальности у пациентов с COVID-19 [101]. В связи с полученными данными было высказано предположение о возможной протективной роли плазминогена в качестве препарата для лечения новой коронавирусной инфекции, что было реализовано в работе Y Wu и др. (2020) [102].

Помимо своей основной функции, плазмин при взаимодействии с вирусными частицами SARS-Cov-2 может выступать в качестве протеолитического агента для протеолиза S-белка вируса, способствуя этим проникновению вирусных частиц в клетки [103]. В результате как высокие, так и низкие концентрации плазмина могут оказывать негативное влияние на течение COVID-19 [104]. Плазмин в системном кровотоке связывается с $\alpha 2$ -антиплазмином, образуя фибринолитически неактивный комплекс плазмин- $\alpha 2$ -антиплазмин, или плазмин-ингибиторный комплекс (PIC). В то время как данные по генетическому полиморфизму плазмина существенно ограничены, в подавляющем большинстве исследований, сосредоточенных на изучении фибринолитической активности у пациентов с

COVID-19, оценивалась концентрация и активность именно PIS как косвенного маркера активности и концентрации самого плазмينا. Так, у 24 пациентов с развившимся на фоне COVID-19 ОРДС, концентрация PIS была более чем в 2 раза выше нормы при нормальной средней концентрации PAI-1, что указывало на наличие системной гиперкоагуляции [105], возможным механизмом которой может быть повышенная концентрация активаторов плазминогена, в том числе, как было сказано выше, uPA. Похожие результаты для PIS были получены в работе Xin Jin и др. (2020) [106]. Концентрация PIS у пациентов с COVID-19 была значительно выше, чем в группе здоровых добровольцев (повышенная концентрация наблюдалась у 79,8% и 5,6% соответственно, $p < 0,001$). При этом концентрация PIS возрастала пропорционально увеличению тяжести COVID-19 и была значительно выше для пациентов с развившимися тромбозомическими осложнениями [106].

В исследовании Fien A. von Meijenfeldt и др. (2020), где выборка пациентов с COVID-19 была увеличена до 102 человек, концентрация PIS, измеренная в первые 7 дней с момента поступления в стационар, была практически в 3 раза выше, чем у здоровых добровольцев (1273 нг/мл и 544 нг/мл соответственно, $p < 0,001$), что также подтвердило полученные ранее данные [107]. Похожие данные были получены и в работе Emma G. Vouck и др. (2021), где дополнительно проводилось сравнение основных параметров коагуляции и фибринолиза между пациентами с COVID-19 и пациентами с сепсисом [108]. Было показано, что в двух исследуемых группах пациентов концентрация PIS была значительно выше, чем у здоровых добровольцев, однако между пациентами с COVID-19 и сепсисом значимых различий обнаружено не было, что говорит о повышенной эндогенной активации фибринолиза. Одновременно с этим концентрация D-димера у пациентов с сепсисом была практически в 5 раз выше, чем у пациентов с SARS-Cov-2 инфекцией, показывая тем самым недостаточную фибринолитическую активность *in vivo* при нормальной фибринолитической активности *in vitro* при добавлении экзогенных активаторов плазминогена [108]. Данное наблюдение, как

показано в работе Christophe Nougier и др. (2020), может быть связано с эндогенной гиперактивацией PAI-1 на фоне COVID-19 [109].

Анализ опубликованных данных позволяет сделать вывод, что сложившаяся на сегодняшний день тенденция заключается в наличии гиперкоагуляционного и гипофибринолитического статуса у пациентов с COVID-19, но далеко не все пациенты укладываются в данную тенденцию. Такое несоответствие может быть связано именно с индивидуальными, генетическими особенностями организма. Генетические полиморфизмы с доказанным функциональным влиянием на белки свертывания крови могут стать полезным диагностическим и прогностическим инструментом [110]. Рутинное генотипирование не является обязательной процедурой для пациентов с острыми респираторными заболеваниями. Однако в условиях пандемии COVID-19 понимание генетических аспектов, обуславливающих особенности течения заболевания, сможет помочь детально разобрать и осмыслить основные патогенетические звенья цепи заражения.

1.2. Вазодилататоры – эндотелиальная NO-синтаза (eNOS)

Большой интерес для понимания механизмов эндотелиальной дисфункции представляет эндотелиальная NO-синтаза (эндотелиальная синтаза оксида азота, eNOS). Оксид азота II (NO) синтезируется из L-аргинина при помощи фермента NO-синтазы (NOS). Существуют 3 основных изоформы NOS, две из которых (эндотелиальная NOS – eNOS и нейрональная NOS – nNOS) экспрессируются в клетках организма постоянно, в то время как индуцибельная NOS (iNOS) запускается под действием воспалительных стимулов [111]. Ген NOS3, кодирующий фермент eNOS, локализован в 7 хромосоме [70]. Данный фермент стабильно экспрессируется в клетках эндотелия сосудов и задействован не только в вазодилатации, но и в регуляции иммунного ответа [112]. Уровень экспрессии NO-синтазы ассоциируется с различными заболеваниями, такими как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, гестоз, атеросклероз, диабетическая нефропатия при сахарном диабете [113-116].

Продукция NO, необходимая для вазодилатации, поддерживается на постоянном безопасном для организма уровне благодаря действию nNOS и eNOS, однако при переключении клеток на провоспалительный статус неконтролируемый синтез NO за счёт iNOS может привести к образованию свободных радикалов, приводя тем самым к оксидативному стрессу за счёт цитотоксического действия последних [117]. Таким образом, в физиологических условиях NO действует в качестве сосудорасширяющего агента, проявляющего дополнительную противовоспалительную и антитромботическую активность. При переключении клеток на прооксидантный статус NO, наоборот, способствует образованию активных форм кислорода, что может вносить определённый вклад в характер течения COVID-19 [111].

Роль эндотелиальной синтазы оксида азота в патогенезе SARS-Cov-2

Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), как было сказано выше, в большом количестве экспрессируется в клетках эндотелиальной выстилки, регулируя толщину просвета сосуда, и, соответственно, давление в сосудистом русле путём выделения оксида азота II (NO). В исследовании на животной модели было показано, что непосредственно S-белок SARS-Cov-2 увеличивает фосфорилирование eNOS по Thr-494 и уменьшает фосфорилирование eNOS по Ser-1176 [118], что в совокупности снижает ферментативную активность eNOS [119] и приводит к недостаточному выделению NO. При изолированном изучении влияния антиоксидантов на эндотелиальные клетки в состоянии воспаления было показано, что параллельно с уменьшением экспрессии воспалительных цитокинов значительно увеличивается экспрессия eNOS [120].

COVID-19 ассоциирован с эндотелиальной дисфункцией, вызванной провоспалительными цитокинами и тропностью SARS-Cov-2 к АПФ2, который экспрессируется, в том числе на клетках эндотелия. На этом фоне биодоступность и выработка NO снижаются, что вносит дополнительный вклад в развитие протромботического состояния за счёт повышения артериального давления (АД) на фоне уже присутствующей эндотелиальной дисфункции [111].

При повреждении эндотелия активность eNOS снижается, что было доказано в работе Alice G. Vassiliou и др. (2021) [121]. Так, у пациентов с ОРДС на фоне COVID-19 сывороточная концентрация eNOS при поступлении была значительно ниже, чем у пациентов без ОРДС. Дополнительно установлено, что необходимость механической вентиляции лёгких повышалась параллельно с уменьшением eNOS в крови [121]. Возможность эффективной и безопасной ингаляции NO при ОРДС была показана ещё в «доковидное время», когда на фоне терапии NO происходило улучшение оксигенации [122] без повышения экспрессии маркёров окислительного стресса [123]. Эффективность и безопасность ингаляции NO также активно изучается у пациентов с COVID-19. Так, показано, что соотношение PaO₂/FiO₂ на фоне дополнительной респираторной поддержки NO увеличивается уже начиная со 2-го дня [124].

Доказано, что у больных COVID-19 сниженная концентрация eNOS ассоциирована с более тяжёлым течением заболевания. Так, в работе Alice G. Vassiliou у 89 пациентов с COVID-19 была измерена концентрация растворимой eNOS в сыворотке крови, взятой в первые 24 часа после поступления в стационар [121]. Оказалось, что у пациентов с ОРДС на фоне COVID-19 концентрация eNOS была значительно меньше, чем у пациентов без ОРДС (3570 нг/мл и 6070 нг/мл соответственно, $p = 0,02$) [121]. Таким образом, на основании полученных результатов становится понятно, что повышенная концентрация eNOS, связанная с повышенной продукцией NO, способна оказать протективный эффект в отношении лёгочных осложнений при COVID-19. Примечательно, что у пациентов с перенесённой COVID-19 инфекцией экспрессия eNOS снижается и в кавернозной ткани полового члена [125], что способно приводить и к развитию эректильной дисфункции в связи с усугубляющейся на фоне SARS-Cov-2 эндотелиальной дисфункцией. Наличие генетически заложенных особенностей продукции eNOS, таким образом, может стать защитным фактором при повышенной активности последней и, наоборот, фактором риска COVID-19 при её сниженной активности.

В работе Merve Nur Aydemir (2021), проведённой с использованием различных инструментов прогнозирования, основанных на биоинформатике, было идентифицировано 40 различных предполагаемых микроРНК, кодируемых разными областями генома вирусной РНК SARS-Cov-2. Было высказано предположение, что ген *NOS3* является одним из таргетных для микроРНК SARS-Cov-2 [126], что указывает на его возможную предиктивную роль в отношении заболеваемости COVID-19.

Генетический полиморфизм гена эндотелиальной NO-синтазы

Ранее было показано, что полиморфные варианты гена eNOS ассоциированы с развитием артериальной гипертензии [127], ишемической болезнью сердца [128], хронической болезнью почек [129], диабетической нефропатией [130], заболеваниями печени [131], хронической обструктивной болезнью легких [132], и это может быть связано с нарушением NO-зависимой вазодилатации и развитием системной гипоксии.

В гене *NOS3* выявлено несколько полиморфных сайтов, для отдельных полиморфных вариантов показано клиническое значение. Многочисленные исследования посвящены полиморфизму 894G>T (rs1799983). Выявлена ассоциация минорной аллели Т с инфарктом миокарда, гипертонией и заболеваниями печени [131, 133, 134]. Таким образом, при патологии значимыми являются частоты проецированной аллели G и минорной аллели риска Т. Также уже было показано, что полиморфные варианты гена *NOS3* ассоциированы с развитием ишемической болезни сердца [128], артериальной гипертензией [135, 136].

Доказана ассоциация полиморфизма гена *NOS3* (4b/a и G894T) с СД 2 типа. Мета-анализ включал 19 статей с вовлечением 8009 пациентов с 4b/4a tandemным повтором и 19 статей с вовлечением 8600 пациентов с G894 генотипом. Установлено, что при наличии 4a ОШ риска СД 2 типа равен 1,32. Наличие 894T аллели ассоциировано с увеличенным риском СД 2 типа (ОШ = 1,14). Следовательно, данные метаанализа показали, что наличие *NOS3* полиморфизма 4b/a и G894T полиморфизма ассоциируется с риском СД 2 типа [134].

Показано, что -786T>C полиморфизм *NOS3* ассоциируется с увеличенным риском рака мочевого пузыря [137]. Кроме того, мета-анализ, включающий 17 независимых исследований (1792 больных и 2411 пациентов контрольной группы), показал, что полиморфизм *eNOS* rs1799983 (Glu298Asp) ассоциируется с риском рака предстательной железы [138].

Данные относительно взаимосвязи отдельных полиморфных аллелей гена *NOS3* и COVID-19 весьма ограничены. В одной из немногих работ, в которой проводился анализ вклада генетических компонент в развитие COVID-19, были изучены два варианта генетического полиморфизма гена *NOS3*: rs1799983 (экзон 7 Glu298Asp) и тандемный повтор 27 пар азотистых оснований в интроне 4 на примере 79 госпитализированных пациентов с подтверждённым COVID-19 и 100 здоровых добровольцев [139]. При наличии мутации rs1799983 в 7 экзоне гена *NOS3* гуанин (G) заменяется на тимин (T). В результате такой замены глутаминовая кислота в позиции 298 заменяется на аспарагиновую. В ходе эксперимента было показано, что аллели G встречаются в 80,4% и 81% случаев, а T – в 19,6% и 19% случаев у пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев соответственно ($p = 0,893$). При сравнении генотипов GG, GT и TT у пациентов с новой коронавирусной инфекцией и без неё различий в частоте встречаемости каждого из вариантов не обнаружено. Статистически значимые различия также отсутствовали и для частоты встречаемости тандемного повтора 27 пар азотистых оснований в интроне 4 у пациентов с COVID-19 и у здоровых добровольцев [139]. Несмотря на отсутствие статистически значимой взаимосвязи между COVID-19 и полиморфными вариациями *NOS3*, логично предположить, что при недостаточной продукции NO нарушение вазодилатации может приводить к развитию эндотелиальной дисфункции, точно так же, как чрезмерная продукция NO, сопряжённая с образованием активных форм кислорода.

Изучение генетических особенностей, обусловленных полиморфизмом гена *NOS3*, в том числе оказывающих влияние на продукцию eNOS, может дать возможность выявлять защитные факторы при повышенной активности и/или

экспрессии фермента и, наоборот, определять факторы риска COVID-19 при сниженной активности и/или экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота.

Таким образом, в литературе описаны многочисленные исследования, в которых изучались предикторы тяжелого течения, осложнений и смертности, связанных с COVID-19. Большая роль в понимании патогенеза SARS-Cov-2 и развития симптомов COVID-19 принадлежит генам, ассоциированным с эндотелиальной дисфункцией, и их белковым продуктам. В то же время сохраняется большая вариабельность между пациентами. Молекулярно-генетические механизмы такой изменчивости остаются в значительной степени неясными. Можно утверждать, исследования, которые выявляют предикторы тяжести или защитные факторы COVID-19, включая индивидуальные генетические вариации, актуальны и практически значимы.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе Отдела лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

2.1. Контингент исследования

В настоящее исследование включены пациенты, проходившие стационарное лечение на базе Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (МНОЦ МГУ), Москва, в период с апреля по июнь 2020 года с подтвержденным диагнозом COVID-19. Суммарно в исследование включен 151 взрослый пациент. Все пациенты давали письменное согласие на участие в исследовании. Включение пациентов в исследование, проведение данной работы по исследованию замороженных образцов крови и плазмы было одобрено комитетом по этике Медицинского научно-образовательного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, протокол № 07/22 от 26 сентября 2022 г. Исследование проводили в соответствии с нормами Хельсинской декларации.

Демографическая и клиническая характеристика когорты пациентов

В исследование был включен 151 пациент в возрасте от 24 до 96 лет. Средний возраст пациентов составил 56,8 лет. Медиана возраста пациентов составила 57 лет, межквартильный диапазон от 46,5 до 69 лет. 73 пациента (48%) были женщинами, 78 пациентов (52%) были мужчинами. Средняя длительность пребывания пациентов в стационаре составила 17 дней. Диагноз COVID-19 подтверждали путем взятия мазка из носоглотки с последующим анализом методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на SARS-CoV-2.

Лабораторная диагностика общая

В данной работе использовали результаты лабораторных исследований пациентов, полученные в период госпитализации пациентов в стационаре МНОЦ

МГУ. Используются следующие результаты диагностики (максимальные показатели за период госпитализации):

- С-реактивный белок (СРБ);

- Коагулограмма в объеме: протромбиновое время (ПВ), протромбин по Квику, тромбиновое время, фибриноген, уровень D-димера, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и международное нормализованное отношение (МНО).

Анализ уровня биохимических показателей крови проводился с использованием автоматического биохимического анализатора AU480 (Beckman Coulter, Германия). Анализ показателей гемостаза проводили на автоматическом анализаторе Stago STA Compact (Stago, Франция).

2.2. Протокол компьютерной томографии грудной клетки и оценка выраженности изменений в легких

Компьютерная томография (КТ) легких и органов грудной клетки была выполнена на компьютерном томографе Somatom Score (Siemens, Германия) с толщиной среза 1 мм. Использовался стандартный протокол КТ со следующими параметрами сканирования: напряжение трубки 120 кВ, автоматическая модуляция тока трубки в диапазоне 200-400 мА. Для повторных КТ-сканирований использовался протокол КТ с низкой дозой со следующими параметрами сканирования: настройки напряжения трубки 100 или 110 кВ, автоматическая модуляция тока трубки, ток трубки в диапазоне 40-120 мА. Стандартный протокол КТ обеспечивал облучение $3,9 \pm 0,4$ мЗв, протокол КТ с низкими дозами обеспечивал облучение $0,9 \pm 0,2$ мЗв. КТ-исследования проводились при поступлении пациента и выписке из больницы, в период госпитализации они повторялись по мере клинической необходимости, но не реже одного раза в 5 дней.

Оценка выраженности (объема, площади, протяженности) изменений в легких

Оценку выраженности изменений в легких осуществляли в соответствии с Временными методическими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации, основанными на международном и отечественном опыте, анализе научных публикаций и нормативно-правовых документах Минздрава России и Роспотребнадзора [140]. Оценку изменений в легких проводили на основании программ компьютерной оценки плотности легких и составления карт плотности легочной паренхимы. Для обработки и анализа компьютерной томографии использовали платформу Syngo.via (Siemens). Для точного количественного анализа поражений паренхимы легких, связанных с COVID-19, использовали программный пакет «Gamma Multivox» (<https://multivox.ru>). С помощью программного обеспечения выполняли автоматическое цветовое кодирование и подсчитывали объем помутнений по типу «матового стекла» и зон консолидации на изображениях компьютерной томографии, анализировали их процентное соотношение к общему объему легкого. Сумма объемных процентов помутнений по типу «матового стекла» и зон консолидации относительно общего объема легкого далее называется процентом поражения легкого. Процент поражения оценивали отдельно по каждому легкому. Степень изменений оценивали по легкому с наибольшим поражением. Для последующего анализа использовали максимальное значение всех выполненных измерений для каждого пациента.

Использовали полуколичественную адаптированную «эмпирическую» шкалу [140]:

1. Отсутствие характерных проявлений (КТ-0);
2. Минимальный объем/распространенность <25% объема легких (КТ-1);
3. Средний объем/распространенность 25 – 50% объема легких (КТ-2);
4. Значительный объем/распространенность 50 – 75% объема легких (КТ-3);

5. Субтотальный объем/распространенность >75% объема легких (КТ-4).

2.3. Материал исследования

В качестве материала исследования использованы замороженные образцы венозной крови и сыворотки крови пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, находящиеся в биобанке МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова, а также результаты обследования и лечения больных COVID-19.

Венозную кровь в объеме 5 мл забирали в пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта (1 объем раствора 0,5 М Na₂-ЭДТА, pH 8,0 + 9 объемов крови). После тщательного перемешивания образцы помещали в морозильную камеру и хранили при -20⁰С. Сохраненные таким образом образцы использовались для молекулярно-генетических анализов.

Для получения сыворотки кровь забирали в пробирки с активатором свертывания, центрифугировали при 800–1600 g в течение 10 мин. Выделенную сыворотку переносили в сухие чистые пробирки. Образцы сыворотки помещали в морозильную камеру и хранили при -20⁰С. Сохраненные таким образом образцы использовались для определения уровня растворимого uPAR.

2.4. Выделение геномной ДНК

Геномную ДНК экстрагировали из замороженной периферической венозной крови с использованием набора для выделения ДНК «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА» (ДНК-Технология, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. В каждую пробирку вносили по 300 мкл лизирующего раствора. Затем по 100 мкл подготовленного биоматериала вносили в пробирки для исследуемых образцов. Образцы инкубировали при 65⁰С в течение 15 мин, далее центрифугировали при 16000 g в течение 30 сек. Добавляли 400 мкл реагента для преципитации, пробирки встряхивали на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 сек. Далее пробирки центрифугировали при 16000 g в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удаляли,

к осадку дважды добавляли промыточный раствор, содержимое аккуратно перемешивали и центрифугировали при 16000 g в течение 5 мин. После каждого центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно удаляли. Далее осадок высушивали при 65°C в течение 5 мин. К осадку добавляли 300 мкл буфера для растворения. Осаждение капель осуществляли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 сек. Далее пробирки прогревали при 65°C в течение 10 мин. Затем пробирки центрифугировали при 16000 g в течение 30 сек. ДНК хранили при -20°C.

2.5. Определение полиморфизма исследуемых генов

Полиморфные варианты исследуемых генов были генотипированы с использованием коммерческих наборов с аллель-специфичными праймерами (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Количественную ПЦР проводили на устройстве для ПЦР в реальном времени «ДТ-96» (ДНК-технология, Россия). Программа термоциклирования была следующей: 2-минутная стадия денатурации при 80°C, 5-минутная стадия денатурации при 94°C, за которой следуют 5 циклов усиления, состоящих из 30 секунд денатурации при 94°C, 15 секунд отжига и удлинения при 67°C, за которыми следует 40 циклов усиления – циклы, состоящие из 5 секунд денатурации при 94°C, 15 секунд отжига и удлинения при 67°C.

Генотипы определяли по температурам плавления продуктов амплификации в каналах FAM и HEX.

В диссертационном исследовании определяли следующие полиморфные варианты генов: *NOS3* (rs2070744, rs1799983), *SERPINE1* (rs1799768), *PLAU* (rs2227564) и *PLAUR* (rs344781, rs2302524). Основанием для изучения полиморфных вариантов данных генов стало предположение их возможной взаимосвязи с тяжестью течения заболевания при инфицировании вирусом SARS-Cov-2, основанное на понимании функций продуктов этих генов. Наличие особенностей гена *NOS3* (ген эндотелиальной NO-синтазы) может стать защитным

фактором при повышении активности образующегося фермента и, наоборот, стать фактором риска тяжелого течения COVID-19 при снижении активности продукта. Полиморфные варианты генов *PLAUR* и *PLAU*, кодирующие uPAR и uPA соответственно, могут провоцировать гипо- или гиперфибринолитическое состояние крови, что позволяет предположить их решающую роль при неблагоприятном развитии заболевания. Для поиска диагностических критериев нарушения гемостаза, происходящего при COVID-19, важным является понимание роли ингибитора активатора плазминогена PAI-1, закодированного в гене *SERPINE-1 (PAI-1)*, в работе исследован полиморфный вариант *SERPINE-1*.

Перечень и характеристика однонуклеотидных полиморфных вариантов, включенных в исследование, представлены в Таблице 1. Для оценки соответствия распределения генотипов ожидаемым значениям использовали равновесие Харди–Вайнберга. Отклонение генетических частот от равновесия Харди-Вайнберга (HWE) оценивали по всем аллелям с помощью точного критерия Фишера. Распределение частот аллелей для всех генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (p-значение для HWE превышает 0,05).

Таблица 1. Полиморфные варианты генов, включенные в исследование. Частоты минорных аллелей в популяции были импортированы из Базы данных с агрегированными сведениями о геномах (gnomAD, версия 3.1.2, <https://gnomad.broadinstitute.org/>) а также из данных мета-анализа, опубликованного в 2022 году Jarahzadeh М.Н. и др. [141].

Ген	Идентификатор	Полиморфизм	Тип мутации	Хромосома	Частота минорной аллели (gnomAD)	<i>p</i> -значение для HWE
<i>NOS3</i>	rs2070744	c.-786T>C	в промоторе	7	0.2998	0.611
<i>NOS3</i>	rs1799983	c.894G>T p.Glu298Asp	миссенс-мутация	7	0.2446	0.705
<i>SERPINE1</i>	rs1799768	c.-675 4G>5G c.-1969_- 1968insG	в промоторе	7	0.370 [†]	1
<i>PLAU</i>	rs2227564	c.422C>T p.Pro141Leu	миссенс-мутация	10	0.1952	0.470
<i>PLAUR</i>	rs344781	c.-516T>C	в промоторе	19	0.2028	0.417
<i>PLAUR</i>	rs2302524	g.43652320T> C c.659A>G p.Lys220Arg	миссенс-мутация	19	0.1683	0.538

[†] частота аллели взята из данных мета-анализа, проведенного Jarahzadeh М.Н. и др., 2022 г. [141].

2.6. Определение сывороточных концентраций uPAR

Уровни растворимого uPAR в образцах сыворотки в исследуемой когорте измеряли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). Для анализа использовали коммерческий набор для иммуноферментного анализа uPAR человека «Human uPAR ELISA Kit» (Abcam, США), предназначенный для количественного измерения белка uPAR в плазме и сыворотке. Для количественного определения сывороточной концентрации uPAR в соответствии с рекомендуемым протоколом проводили иммуноферментный анализ с однократной промывкой.

Замороженные образцы сыворотки крови были разморожены при комнатной температуре и несколько раз аккуратно переворачивались для перемешивания перед анализом. Сыворотку разбавляли в соотношении 1:4. В лунки планшета вносили по 50 мкл исследуемого раствора, добавляли по 50 мкл раствора специфичных антител. Инкубация исследуемого раствора с антителами осуществлялась при комнатной температуре в течение 60 мин. Далее каждую лунку трижды промывали 350 мкл промывочного буфера. Затем в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора конъюгата, содержащего специфичные антитела, конъюгированные с ферментом, и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. Остановку реакции проводили добавлением в каждую лунку планшета 100 мкл стоп-реагента. Оптическую плотность раствора окрашенного продукта измеряли при длине волны 450 нм с использованием планшетного спектрофотометра. На каждом планшете определяли среднее значение поглощения для пустых контрольных лунок. Среднее значение поглощения контрольной лунки вычитали из всех других значений поглощения. Определение концентрации целевого белка uPAR в образце осуществлялось путем интерполяции полученных значений поглощения по стандартной кривой. Полученное значение умножали на 5 с учетом коэффициента разбавления сыворотки крови при подготовке образцов, таким образом получали концентрацию целевого белка в uPAR сыворотке крови.

2.7. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы R (версия 4.2.1) и встроенных пакетов `epitools` (версии 0.5-10.1), `genetics` (версия 1.3.8.1.3), `haplo.stats` (версия 1.8.9), `ROCit` (версия 2.1.1), `forestmodel` (версия 0.6.2), `ggpubr` (версия 0.4.0) и `ggplot2` (версия 3.3.6). Категориальные переменные (возраст, пол, частота генотипов) в результатах описывались в виде чисел и процентов и сравнивались с помощью точного критерия Фишера. Пациенты были сгруппированы по возрасту следующим образом: моложе 40 лет, 40-49 лет, 50-59 лет, 60-69 лет, 70-79 лет, 80 лет и старше. Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Непрерывные переменные в зависимости от типа их распределения представляли в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего (SEM) или медианы [межквартильный диапазон] и сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента в случае двух групп или одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) в случае трех и более групп. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга (HWE) оценивали для всех полиморфных аллелей с помощью точного критерия Фишера с использованием функции `HWE.exact()` пакета `genetics`; гипотеза о равновесии Харди-Вайнберга в этой популяции была подтверждена для всех изучаемых полиморфных вариантов генов (p -значение $> 0,05$).

Оценка степени поражения легких при COVID-19 была проверена на ассоциацию с полиморфными вариантами исследуемых генов. Пациенты, включенные в исследование, были классифицированы в соответствии с процентом поражения легких на КТ-снимках на группы «легкой» степени ($\leq 25\%$ поражения легких) до «умеренно-тяжелой» ($> 25\%$ поражения легких), далее именуемые «тяжелой» степенью. Частоты генотипов и аллелей между «легкой» и «тяжелой» группами сравнивали на предмет значимости с помощью точного критерия Фишера с использованием функции `fisher.test()`. Отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (95% ДИ) использовали для описания тесноты связи на основе модели кодоминантного наследования (функция `oddsratio()`). Полученные

результаты сравнивали по значимости с использованием точного критерия Фишера и представляли как ОШ [95%ДИ]. Для корректировки параметров возраста и пола была выполнена логистическая регрессия с использованием функции `glm()` с кодоминантными, доминантными, рецессивными, сверх-доминантными и аддитивными моделями наследования. В исследовании представлены модели, которые соответствуют полученным данным, и для выбора моделей применялся информационный критерий Акаике (ИКА), были выбраны модели с наименьшими значениями ИКА. Для оценки частот гаплотипов и выявления ассоциации между гаплотипами и признаками был применен алгоритм максимизации ожиданий (EM) с использованием функций `haplo.em()` и `haplo.glm()` программного пакета `haplo.stats`.

Для количественной оценки корреляции определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена между процентом поражения легких по результатам КТ и потенциальными предикторами (АЧТВ, СРБ, D-димер, фибриноген, тромбиновое время, uPAR). Прогностическую эффективность непрерывных параметров (АЧТВ, СРБ, D-димер, фибриноген, тромбиновое время, uPAR) в прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких (> 25% поражения легких) оценивали с использованием показателя площади под ROC-кривой (AUC) с помощью функции `rocit()` пакета `ROCit` эмпирическим методом.

Чтобы определить независимые прогностические факторы степени поражения легких, связанного с COVID-19, была применена многофакторная логистическая регрессия с использованием функции `glm()` с поправкой на возраст, пол, СРБ, фибриноген, D-димер, тромбиновое время и *PLAUR* rs2302524 в качестве независимых переменных и степени поражения легких ($\leq 25\%$ или $> 25\%$) в качестве двоичной зависимой переменной. Результаты были представлены графически с использованием функции `forest_model()` пакета `forestmodel`.

Уровень значимости результатов для всех гипотез был принят как $p < 0,05$. При представлении результатов выделялись следующие уровни статистической значимости результатов математической обработки данных:

$p \leq 0,05$ — получен статистически значимый результат, обозначался одной звездочкой (*);

$p \leq 0,01$ — обнаружена выраженная закономерность, обозначалась двумя звездочками (**);

$p \leq 0,001$ — очень высокий уровень значимости, обозначался тремя звездочками (***);

$p \leq 0,0001$ — максимально высокий уровень значимости, обозначался четырьмя звездочками (****).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Ассоциация тяжести поражения легких с полом и возрастными группами

В исследуемой когорте среднее значение процента поражения легких определено как $29,9 \pm 1,83\%$; медиана определена как 20 [10 – 43] %. Из 151 пациента, включенного в исследование, 84 относились к группе «легкой» степени поражения легких ($\leq 25\%$ поражения), 67 – к группе «тяжелой» степени поражения легких ($> 25\%$ поражения). Полученные данные были проанализированы на предмет выявления различий в распределении по полу и возрасту между группами пациентов с «легкой» и «тяжелой» степенью поражения легких. В Таблице 2 представлены средние значения процента поражения легких по результатам КТ в группах пациентов.

Таблица 2. Процент поражения легких в общей когорте пациентов и в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких. Представлены средние значения \pm стандартная ошибка среднего (SEM).

Переменная	Всего (n = 151)	«Легкая» степень (n = 84)	«Тяжелая» степень (n = 67)	p-значение
Процент поражения легких, %	$29,9 \pm 1,829$	$13,3 \pm 0,681$	$50,8 \pm 2,130$	$7,61 \times 10^{-28}$ ****

Медианы возраста пациентов в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких, распределение между группами «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких пациентов разных возрастных групп представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Возрастные характеристики пациентов в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких. Представлены медианы [межквартильный диапазон] возраста пациентов; число пациентов возрастной группы в общей когорте и в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких.

Переменная	Всего (n = 151)	«Легкая» степень (n = 84)	«Тяжелая» степень (n = 67)	p-значение
Возраст	57 [46.5-69]	56 [43,8-69,2]	58 [51-67,5]	0,053
18-39	22 (15%)	17	5	
40-49	25 (17%)	15	10	
50-59	40 (26%)	17	23	
60-69	29 (19%)	14	15	
70-79	21 (14%)	15	6	
80+	14 (9%)	6	8	

В исследуемой когорте не обнаружено достоверных различий распределения пациентов разных возрастных групп между группами «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких у пациентов с COVID-19 ($p = 0,053$, точный критерий Фишера). Аналогично, согласно Таблице 4, не обнаружено достоверных различий распределения пациентов разных полов между группами «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких у пациентов с COVID-19 ($p = 0,3258$ соответственно, точный критерий Фишера).

Таблица 4. Число и процентная доля мужчин и женщин в общей когорте пациентов и в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких.

Переменная	Всего (n = 151)	«Легкая» степень (n = 84)	«Тяжелая» степень (n = 67)	р-значение
Пол				
Женский	73 (48%)	44 (52%)	29 (43%)	0,3258
Мужской	78 (52%)	40 (48%)	38 (57%)	

На Рисунке 1 представлены данные о тяжести поражения легких, связанного с COVID-19: плотность поражения легких у мужчин и женщин, распределение процента поражения легких у мужчин и женщин и у пациентов разных возрастных групп.

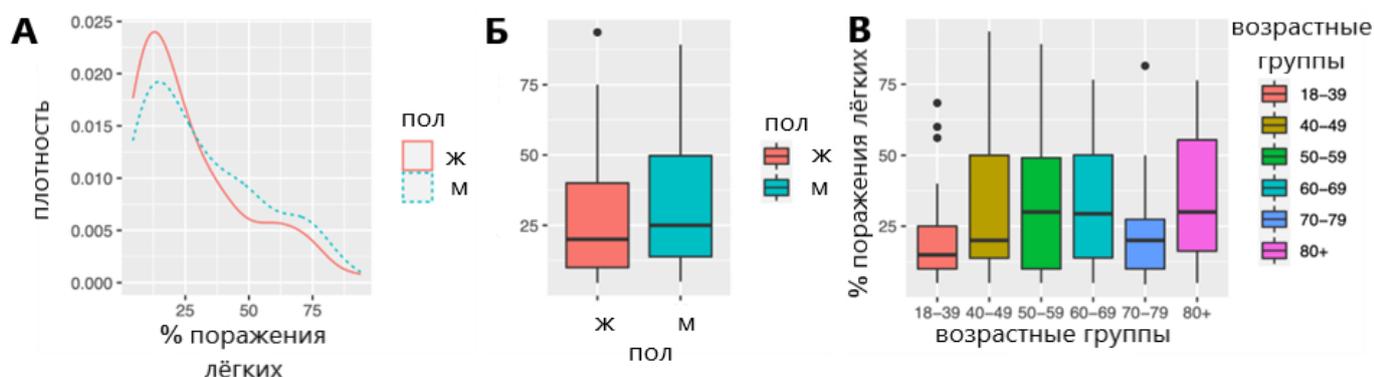


Рисунок 1. Плотность и тяжесть повреждения легких, связанного с COVID-19, в исследуемой когорте:

(А) График плотности процентного поражения легких в исследуемой когорте в группах мужчин (М, синяя пунктирная линия) и женщин (Ж, красная сплошная линия);

(Б) Диаграмма размаха процента поражения легких в группах мужчин и женщин;

(В) Диаграмма размаха процента поражения легких в разных возрастных группах;

(Б), (В) Показаны медианы (горизонтальные линии в блоках) процента поражения легких, нижние и верхние квартили (границы блоков), края статистически-значимой выборки (усы) и выбросы (точки).

Нами не обнаружено существенных различий процента поражения легких у пациентов между полами ($p = 0,193$; t-критерий) или возрастными группами ($p = 0,229$; ANOVA).

3.2. Коагулологический и биохимический анализ крови. Ассоциация факторов анализа крови со степенью поражения легких

В Таблице 5 представлены результаты анализа крови, включающие в себя следующие показатели гемостаза и биохимические показатели: уровень С-реактивного белка (СРБ), протромбиновое время (ПВ), протромбин по Квику, тромбиновое время, фибриноген, уровень D-димера, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и международное нормализованное отношение (МНО). В таблице приведены средние значения показателей анализа крови пациентов в общей когорте и в группах «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких.

Таблица 5. Данные анализа крови пациентов. Представлены средние значения \pm SEM

Фактор анализа	Всего (n = 151)	«Легкая» степень (n = 84)	«Тяжелая» степень (n = 67)	p-значение
АЧТВ, с	41,8 \pm 1,212	37,9 \pm 0,744	46,8 \pm 2,502	0,00105 **

СРБ, мг/л	86,3 ± 6,95	46,6 ± 5,56	136,1 ± 11,45	2,91 x 10⁻¹⁰ ****
D-димер, мг/л	1,88 ± 0,255	1,10 ± 0,240	2,85 ± 0,465	0,00114 **
Фибриноген, г/л	6,06 ± 0,142	5,36 ± 0,149	6,94 ± 0,217	2,20 x 10⁻⁸ ****
МНО	1,23 ± 0,049	1,15 ± 0,026	1,33 ± 0,104	0,102
ПВ, с	17,2 ± 0,754	16,0 ± 0,392	18,6 ± 1,597	0,115
Протромбин по Квику, %	89,6 ± 1,35	87,9 ± 1,79	91,6 ± 2,04	0,179
Тромбиновое время, с	23,3 ± 2,28	17,5 ± 1,08	30,9 ± 4,95	0,00993**

Среди показателей анализа крови более высокая степень повреждения легких была достоверно связана с более высокими показателями АЧТВ ($p = 0,00105$, t-тест), СРБ ($p < 0,0001$, t-тест), D-димера ($p = 0,00114$, t-тест), фибриногена ($p < 0,0001$, t-тест) и увеличенным тромбиновым временем ($p = 0,00993$, t-тест). Международное нормализованное отношение (МНО) и протромбиновое время существенно не различались между группами «легкой» и «тяжелой» степени поражения легких.

Количественная оценка корреляции между показателями анализа крови и степенью повреждения легких показала следующие результаты. Все анализируемые факторы продемонстрировали значительную положительную корреляцию с тяжестью повреждения легких, причем сила корреляции уменьшалась в следующем порядке: СРБ ($R = 0,58$), фибриноген ($R = 0,50$), D-димер ($R = 0,46$), АЧТВ ($R = 0,41$), тромбиновое время ($R = 0,37$). На Рисунках 2-6 графически представлена корреляция параметров анализа крови и тяжести повреждения легких (процент поражения легких), показаны коэффициенты корреляции Спирмена (R). Красные линии представляют соответствие линейной регрессии, а серые области представляет 95% доверительные интервалы.

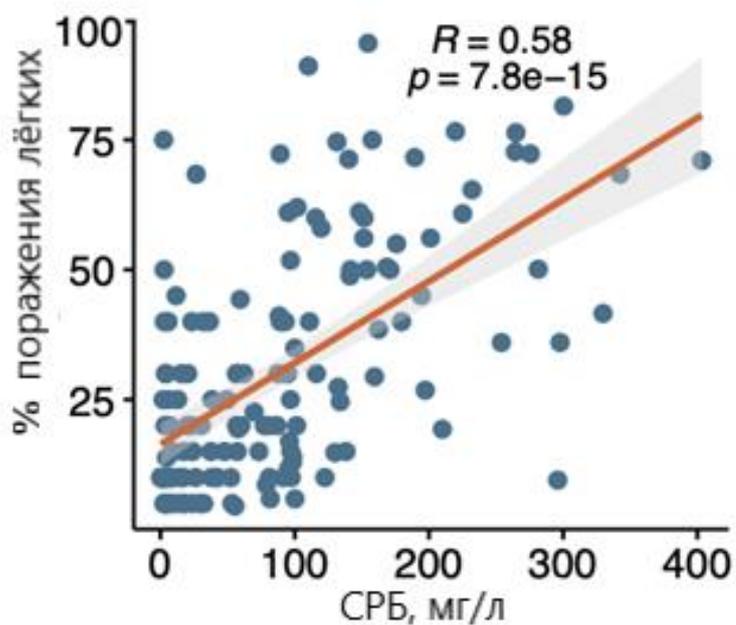


Рисунок 2. График корреляции концентрации С-реактивного белка и тяжести повреждения легких (% поражения легких)

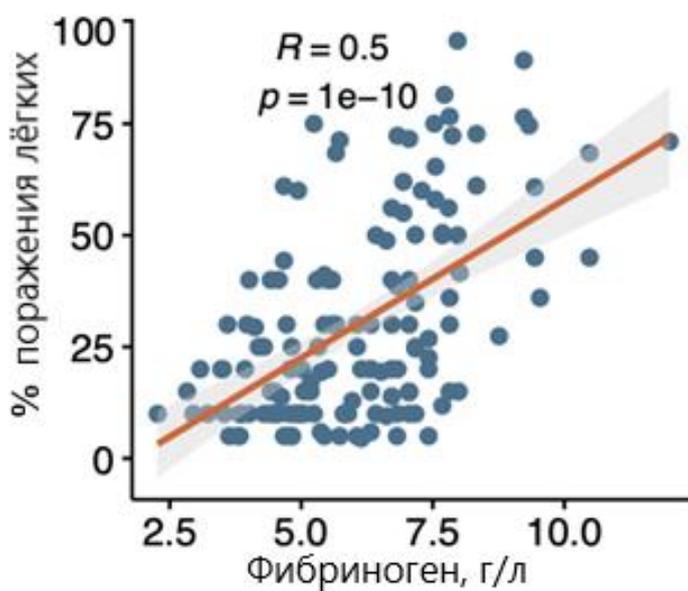


Рисунок 3. График корреляции концентрации фибриногена и тяжести повреждения легких (% поражения легких)

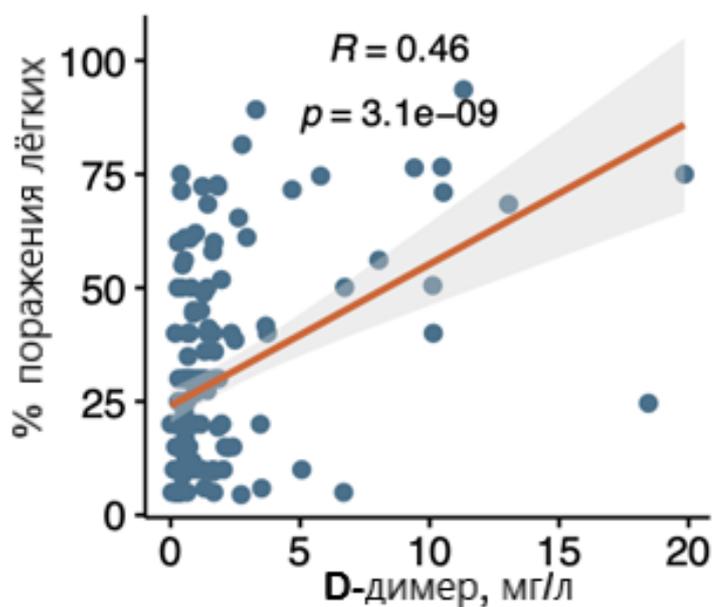


Рисунок 4. График корреляции концентрации D-димера и тяжести повреждения легких (% поражения легких)

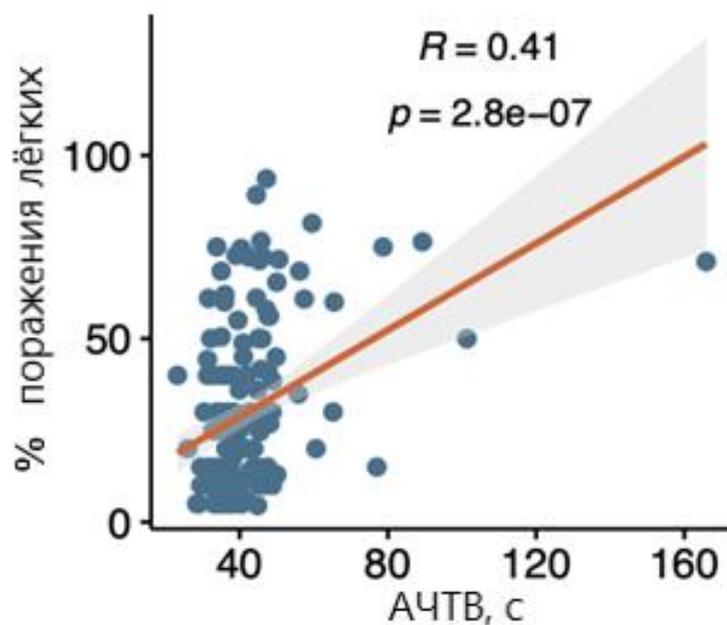


Рисунок 5. График корреляции активированного частичного тромбопластинового времени и тяжести повреждения легких (% поражения легких)

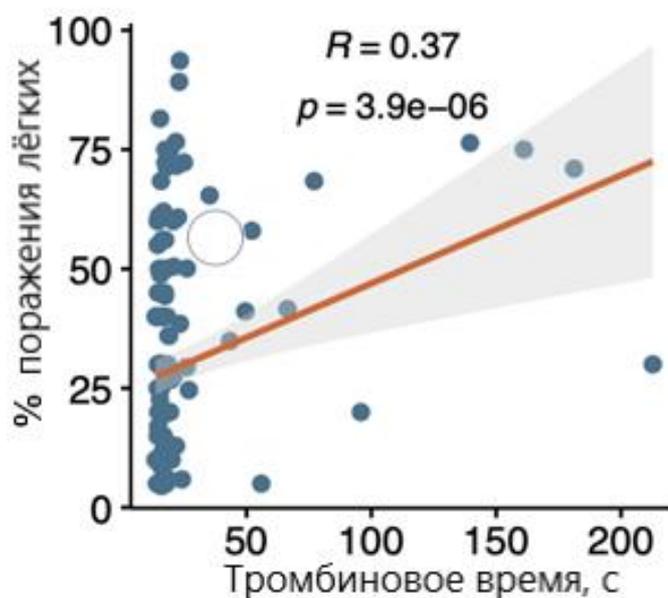


Рисунок 6. График корреляции тромбинового времени и тяжести повреждения легких (% поражения легких)

С целью оценки диагностической эффективности анализируемых факторов анализа крови в прогнозировании «тяжелой» степени повреждения легких (доля поражения легких более 25%) были построены ROC-кривые и определены показатели площади под кривой – AUC. ROC-кривые параметров лабораторного анализа крови при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких представлены на Рисунках 7 – 11. Для каждого изучаемого параметра указаны AUC [95% доверительные интервалы]. Пунктирные линии представляют собой линии вероятности. TPR - истинно положительный показатель, FPR – ложно положительный показатель.

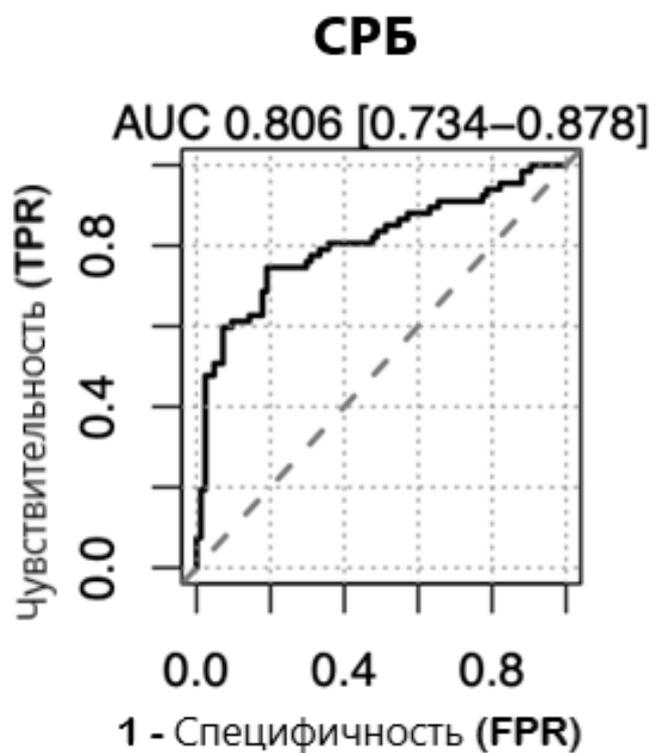


Рисунок 7. ROC-кривая уровня С-реактивного белка при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких

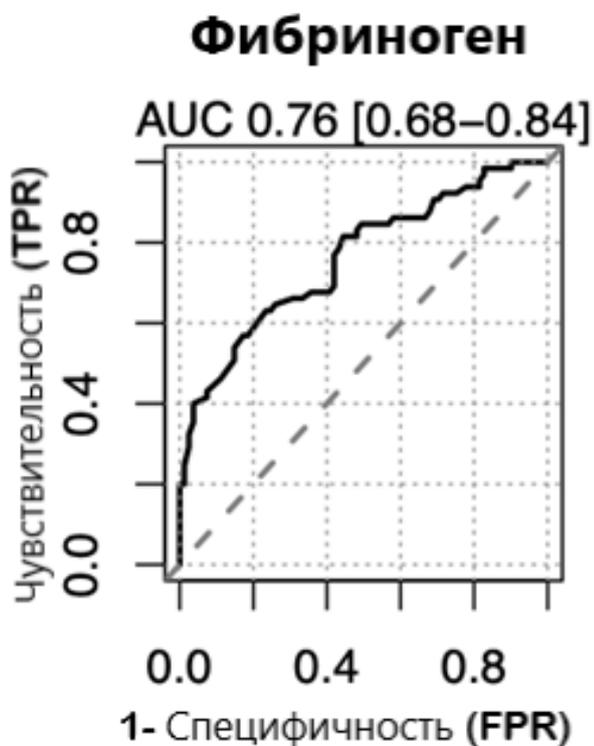


Рисунок 8. ROC-кривая уровня фибриногена при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких

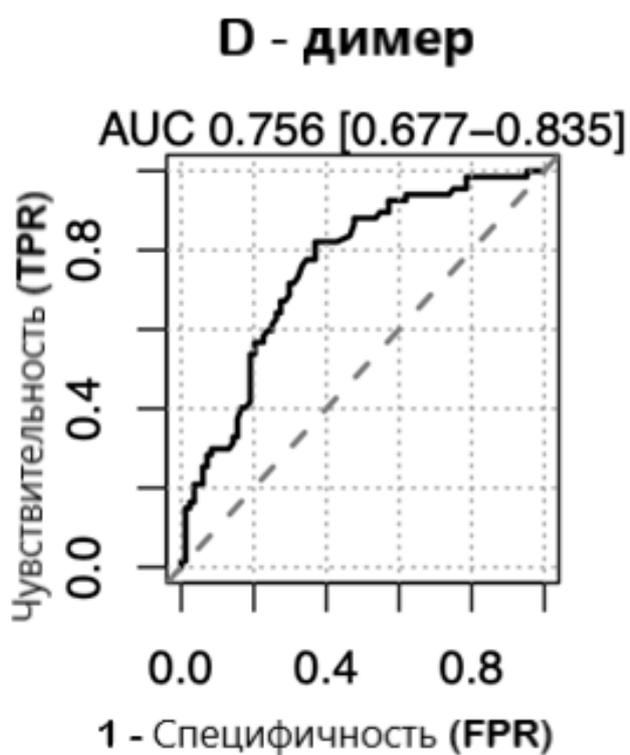


Рисунок 9. ROC-кривая уровня D-димера при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких

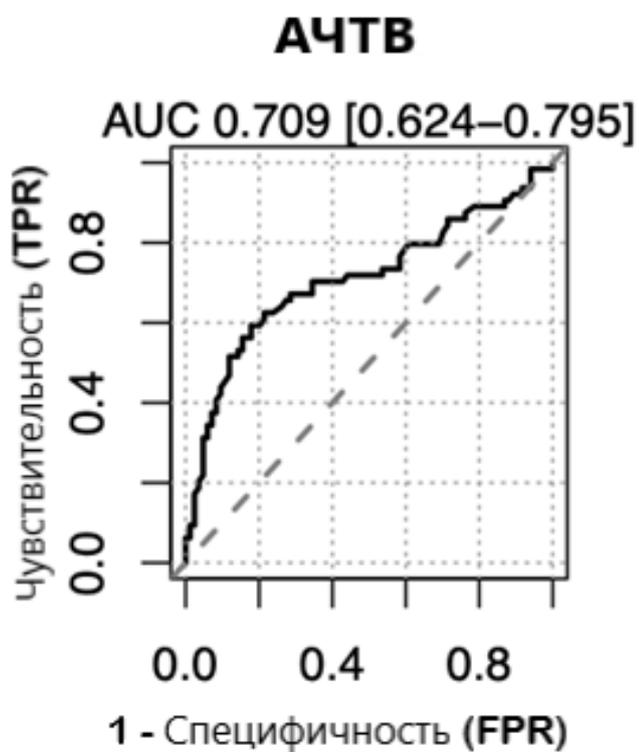


Рисунок 10. ROC-кривая длительности АЧТВ при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких

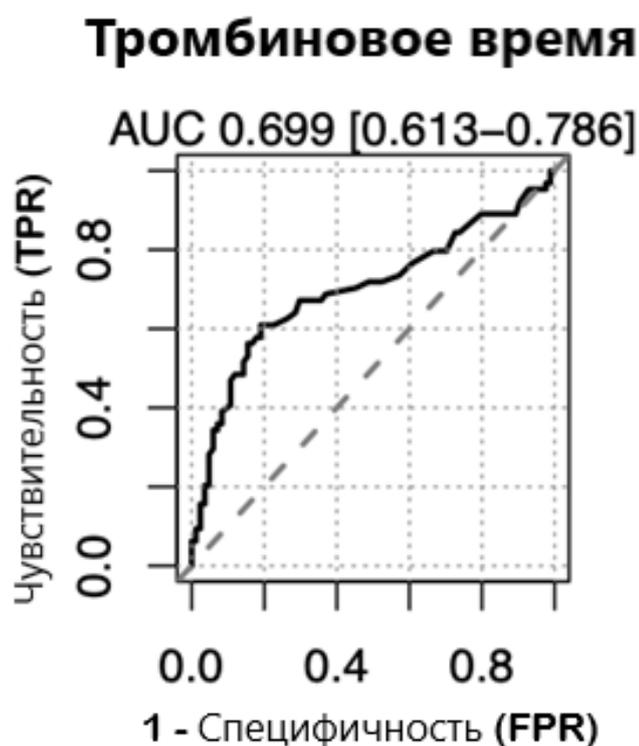


Рисунок 11. ROC-кривая длительности тромбинового времени при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких

По результатам ROC-анализа установлено, что наилучшая прогностическая значимость показана для СРБ (AUC = 0,806 [95%ДИ: 0,734-0,878]). Уровни фибриногена, D-димера в сыворотке крови продемонстрировали сопоставимые показатели (AUC = 0,76 [95%ДИ: 0,68-0,84], AUC = 0,756 [95%ДИ: 0,677-0,835]) в прогнозировании связанной с COVID-19 тяжелой степени повреждения легких. Показатели AUC для АЧТВ и тромбинового времени составили 0,709 [95%ДИ: 0,624-0,795] и 0,699 [95%ДИ: 0,613-0,786] соответственно.

3.3. Ассоциация изучаемых полиморфных вариантов генов с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19

В Таблице 6 представлены распределения генотипов изучаемых полиморфных вариантов генов *NOS3*, *SERPINE1*, *PLAU* и *PLAUR* у пациентов с «легкой» и «тяжелой» степенью поражения легких. Также в Таблице 6 приведены

p-значения, рассчитанные с помощью точного критерия Фишера, указаны отношения шансов (ОШ) и 95% доверительные интервалы [95%ДИ].

Таблица 6. Распределение генотипов у пациентов с «легкой» и «тяжелой» степенью поражения легких при COVID-19

Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа n (%)		р-значение точный критерий Фишера	ОШ [95%ДИ]	р-значение точный критерий Фишера
		«Легкая» степень	«Тяжелая» степень			
<i>NOS3</i> : -769 T>C	ТТ	30 (36%)	26 (39%)	0,6566	1	
	СТ	41 (49%)	28 (42%)		0.790 [0,385 - 1,617]	0,5871
	СС	13 (15%)	13 (19%)		1.152 [0,447 - 2,972]	0,8151
<i>NOS3</i> , rs1799983	GG	43 (51%)	28 (42%)	0,3233	1	
	GT	36 (43%)	31 (46%)		1.319 [0,669 - 2,614]	0,4918
	ТТ	5 (6%)	8 (12%)		2.406 [0,713 - 8,930]	0,2220
<i>SERPINE1</i> , rs1799768	4G4G	19 (23%)	19 (28%)	0,6349	1	
	4G5G	45 (54%)	31 (46%)		0.692 [0,312 - 1,524]	0,4243
	5G5G	20 (24%)	17 (25%)		0.852 [0,339 - 2,131]	0,8185
<i>PLAU</i> , rs2227564	СС	49 (58%)	42 (63%)	0,1957	1	
	СТ	34 (40%)	21 (31%)		0,723	0,3909

					[0,361 - 1,430]	
	TT	1 (1%)	4 (6%)		4,190 [0,554 - 117,613]	0,1906
<i>PLAUR</i> , rs344781	TT	45 (54%)	37 (55%)	0,6836	1	
	TC	33 (39%)	23 (34%)		0,850 [0,423 - 1,692]	0,7272
	CC	6 (7%)	7 (10%)		1,409 [0,422 - 4,846]	0,5676
<i>PLAUR</i>, rs2302524	TT	53 (63%)	55 (82%)	0,0199 *	1	
	TC	28 (33%)	10 (15%)		0,349 [0,147 - 0,773]	0,0130*
	CC	3 (4%)	2 (3%)		0,660 [0,074 - 4,495]	0,6790

В Таблице 7 представлены распределения аллелей изучаемых вариантов генов *NOS3*, *SERPINE1*, *PLAU* и *PLAUR* у пациентов с «легкой» и «тяжелой» степенью поражения легких. Аналогично предыдущей форме представления данных, в Таблице 7 приведены *p*-значения, рассчитанные с помощью точного критерия Фишера, указаны отношения шансов (ОШ) и 95% доверительные интервалы [95%ДИ].

Таблица 7. Распределение аллелей у пациентов с «легкой» и «тяжелой» степенью поражения легких при COVID-19

Полиморфизм	Аллель	Частота аллельного варианта		ОШ [95%ДИ]	р-значение точный критерий Фишера
		n (%)			
		«Легкая» степень	«Тяжелая» степень		
<i>NOS3</i> : -769 T>C	T	101 (60%)	80 (60%)	1	
	C	67 (40%)	54 (40%)	1,018 [0,639-1,619]	1
<i>NOS3</i> : -894 G>T (Glu298Asp)	G	122 (73%)	87 (65%)	1	
	T	46 (27%)	47 (35%)	1,431 [0,875-2,345]	0,168
<i>SERPINE1</i> , rs1799768	5G	85 (51%)	65 (49%)	1	
	4G	83 (49%)	69 (51%)	1,087 [0,689-1,715]	0,730
<i>PLAU</i> , rs2227564	C	132 (79%)	105 (78%)	1	
	T	36 (21%)	29 (22%)	1,013 [0,579-1,762]	1
<i>PLAUR</i> , rs344781	T	123 (73%)	97 (72%)	1	
	C	45 (27%)	37 (28%)	1,043 [0,623-1,738]	0,8969
<i>PLAUR</i> , rs2302524	T	134 (80%)	120 (90%)	1	
	C	34 (20%)	14 (10%)	0,464 [0,230-0,892]	0,0261*

Из данных, представленных в Таблицах 6 и 7, следует, что в рамках исследования не обнаружено существенной связи анализируемых вариантов полиморфизма генов *NOS3*, *SERPINE1*, *PLAU* и однонуклеотидного полиморфного варианта rs344781 гена *PLAUR* с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19.

Ключевым результатом является то, что среди исследуемых генов полиморфный вариант rs2302524 гена *PLAUR* выявлен как достоверно связанный с

определенной тяжестью поражения легких. Гетерозиготный генотип rs2302524 TC продемонстрировал защитный эффект, будучи достоверно более частым в группе пациентов с «легкой» степенью поражения легких при COVID-19: ОШ = 0,349 [95%ДИ: 0,147-0,773] ($p = 0,0130$), предполагая кодоминантную модель наследования.

Для корректировки параметров возраста и пола была выполнена логистическая регрессия. Тенденция ассоциации генотипа rs2302524 TC с «легкой» степенью поражения легких у больных COVID-19 сохранялась: ОШ = 0,315 [95%ДИ: 0,130-0,708] ($p = 0,0069$) в кодоминантной модели наследования (ТС против ТТ; информационный критерий Акаике (ИКА) 204,6). В доминантной модели наследования (ТС-СС против ТТ; ИКА 203,1) прослеживается аналогичная закономерность: ОШ = 0,345 [95%ДИ: 0,152-0,741] ($p = 0,0081$). Также в сверхдоминантной модели наследования (ТС против ТТ-СС; ИКА 202,9) определено ОШ = 0,321 [95%ДИ: 0,133-0,719] ($p = 0,0077$).

Также установлено, что ни один из оцененных гаплотипов *NOS3* или *PLAUR* не был достоверно связан ни с одной из категорий тяжести повреждения легких. Оценка частоты гаплотипов *PLAUR* и *NOS3* и их ассоциации с тяжестью повреждения легких («легкая» или «тяжелая» степень) была выполнена с поправкой на пол и возраст. В качестве ориентира выбирался наиболее распространенный гаплотип (Таблица 8).

Таблица 8. Оценка частоты гаплотипов *PLAUR* и *NOS3* и ассоциации с тяжестью повреждения легких с поправкой на пол и возраст

	<i>PLAUR</i> , rs344781	<i>PLAUR</i> , rs2302524	Частота гаплотипа	ОШ [95% ДИ]	p-значение
1	T	T	0,63679	1,00	
2	C	T	0,20427	1,31 [0,72 - 2,36]	0,3741
3	T	C	0,09168	0,54 [0,21 - 1,41]	0,2105
4	C	C	0,06726	0,39 [0,12 - 1,34]	0,1362
	<i>NOS3</i> : -769 T>C	<i>NOS3</i> , rs1799983			
1	T	G	0,48564	1,00	
2	C	G	0,20641	1,37 [0,69 - 2,72]	0,3679
3	C	T	0,19425	1,19 [0,62 - 2,26]	0,6041
4	T	T	0,11369	2,56 [0,99 - 6,65]	0,0527

3.4. Оценка уровня сывороточной концентрации uPAR как прогностического критерия тяжести повреждения легких при COVID-19

Поскольку полиморфный вариант гена *PLAUR* rs2302524 в гетерозиготе был идентифицирован как полиморфизм, достоверно связанный с тяжестью повреждения легких при COVID-19, то далее мы проанализировали сывороточный уровень белка uPAR, кодируемого геном *PLAUR*, у пациентов, включенных в исследование. Данные об измерении уровня растворимой формы uPAR в сыворотке крови (suPAR) у пациентов в общей когорте и в группах с разной степенью повреждения легких при COVID-19 представлены в Таблице 9.

Таблица 9. Данные анализа концентрации uPAR в сыворотке крови (suPAR) у пациентов, включенных в исследование. Приведены средние значения \pm SEM

Фактор анализа	Всего (n = 151)	«Легкая» степень (n = 84)	«Тяжелая» степень (n = 67)	p-значение
uPAR сывороточная концентрация, нг/мл	7,61 \pm 0,328	6,20 \pm 0,277	9,40 \pm 0,580	3,43 x 10 ⁻⁶ ****

Согласно представленным данным, установлено, что уровень сывороточной концентрации uPAR был значительно выше в группе пациентов с «тяжелой» степенью повреждения легких ($p < 0,0001$, t-тест), что указывает на то, что высокий уровень uPAR ассоциирован с тяжелой степенью поражения тканей на КТ легких у пациентов с COVID-19.

Дополнительная проверка корреляции между уровнем сывороточной концентрацией uPAR и степенью тяжести повреждения легких показала следующие результаты. Установлена положительная корреляция с тяжестью повреждения легких, сила корреляции, определенная через коэффициент корреляции Спирмена, выше ($R = 0,45$), чем для параметров АЧТВ ($R = 0,41$) и тромбинового времени ($R = 0,37$), но ниже, чем для D-димера ($R = 0,46$), фибриногена ($R = 0,50$) и СРБ ($R = 0,58$).

На Рисунке 12 на графике представлена корреляция сывороточной концентрации uPAR и тяжести повреждения легких (процент поражения легких), показан коэффициент корреляции Спирмена (R). Красная линия представляет соответствие линейной регрессии, а серая область представляет 95% доверительные интервалы.

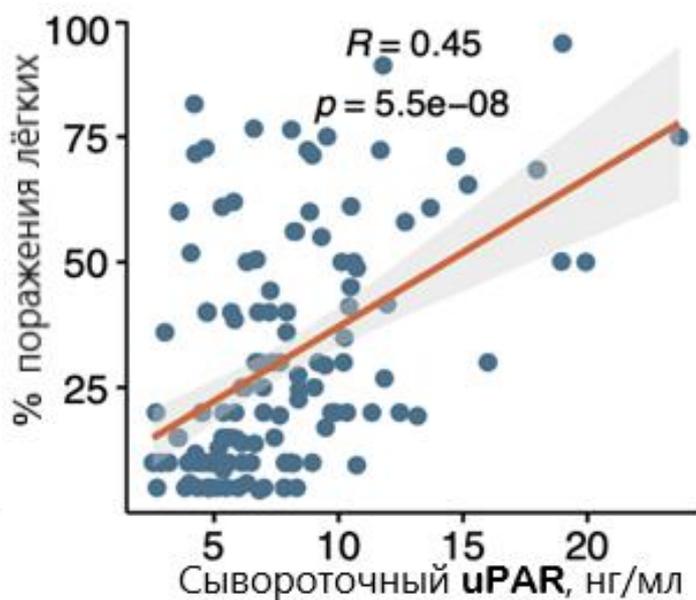


Рисунок 12. Корреляция сывороточной концентрации uPAR и тяжести поражения легких

ROC-кривая для концентрации растворимой формы uPAR в крови при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких представлена на Рисунке 13 с указанием AUC [95% доверительные интервалы].

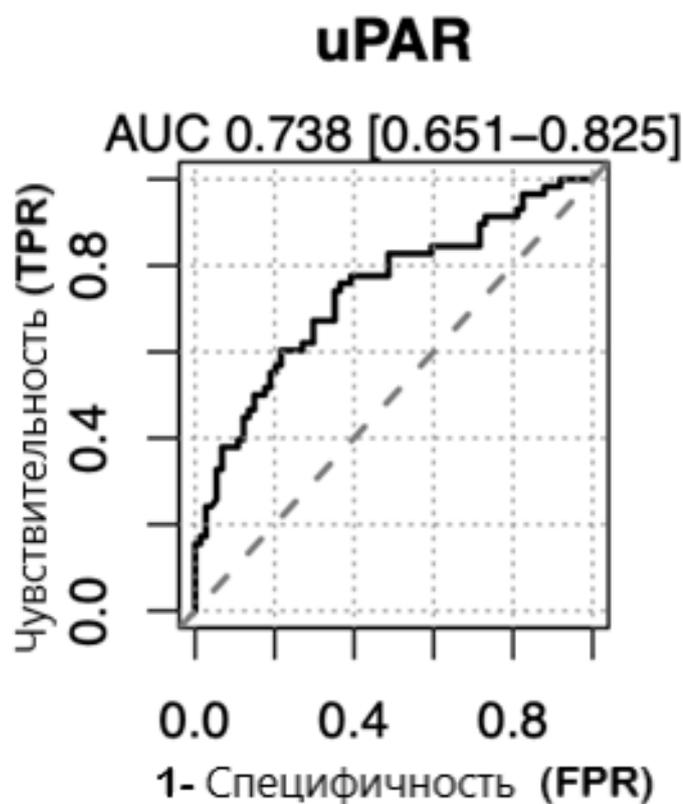


Рисунок 13. ROC-кривая сывороточной концентрации uPAR при прогнозировании «тяжелой» степени поражения легких. Пунктирная линия представляет собой линию вероятности. TPR - истинно положительный показатель, FPR - ложноположительный показатель

По результатам ROC-анализа установлено, что среди всех анализируемых показателей крови наилучшая прогностическая способность показана для С-реактивного белка (AUC = 0,806 [95%ДИ: 0,734-0,878]). Уровень uPAR в сыворотке крови демонстрирует показатель (AUC = 0,738 [95%ДИ: 0,651-0,825]), сопоставимый с уровнями фибриногена и D-димера (AUC = 0,76 [95%ДИ: 0,68-0,84] и AUC = 0,756 [95%ДИ: 0,677-0,835] соответственно) в прогнозировании тяжести повреждения легких, связанного с COVID-19. Также в рамках данной работы показано, что уровень концентрации белка suPAR в сыворотке крови пациентов с COVID-19 положительно коррелирует с уровнем концентрации С-реактивного белка. Эта зависимость показана на графике корреляции для уровня uPAR и уровня СРБ в сыворотке крови (Рисунок 14). На графике также представлен

коэффициент корреляции Спирмена $R = 0,45$. На графике красная линия представляет соответствие линейной регрессии, а серая область представляет 95% доверительные интервалы.

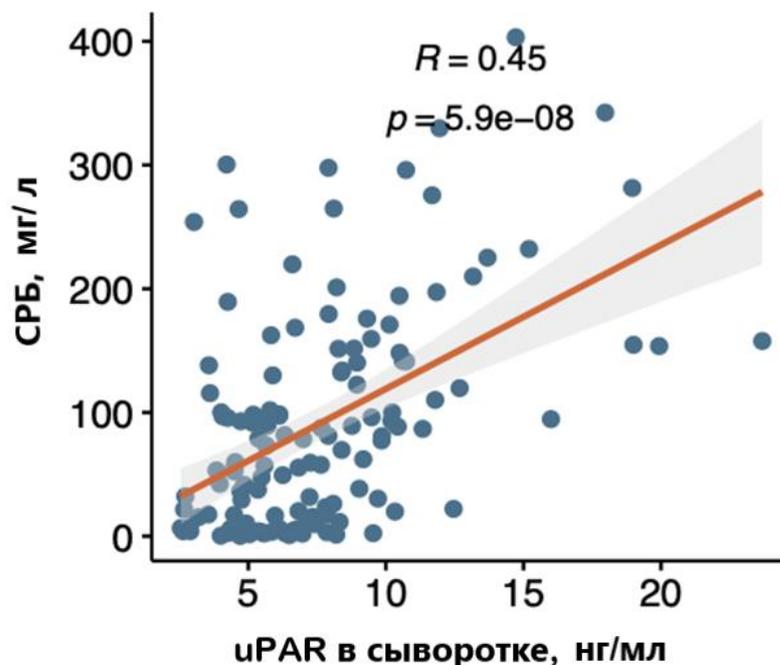


Рисунок 14. График корреляции для uPAR и уровня CRP в сыворотке крови

Значимость уровня uPAR в качестве прогностического инструмента в рамках данного исследования оценена посредством расчета показателей чувствительности и специфичности. Для этого было использовано пороговое значение, имеющее прогностическое значение для уровня uPAR в сыворотке крови - 6 нг/мл. Предложенное пороговое значение определено в публикациях Velissaris D. et al. 2020 года и Santeri S. et al. 2021 года по результатам клинических исследований [142, 143]. На Рисунке 15 построены кривые чувствительности и специфичности прогнозирования «тяжелой» степени повреждения легких посредством уровня uPAR в сыворотке крови. Для определенного порогового значения 6 нг/мл точки пересечения с кривыми чувствительности и специфичности дают показатели 0,77

и 0,55 соответственно. Таким образом, прогностическая ценность высокого уровня uPAR в сыворотке крови для определения «тяжелой» степени повреждения легких (более 25%), вызванного COVID-19, характеризуется 77% чувствительности и 55% специфичности (Рисунок 15).

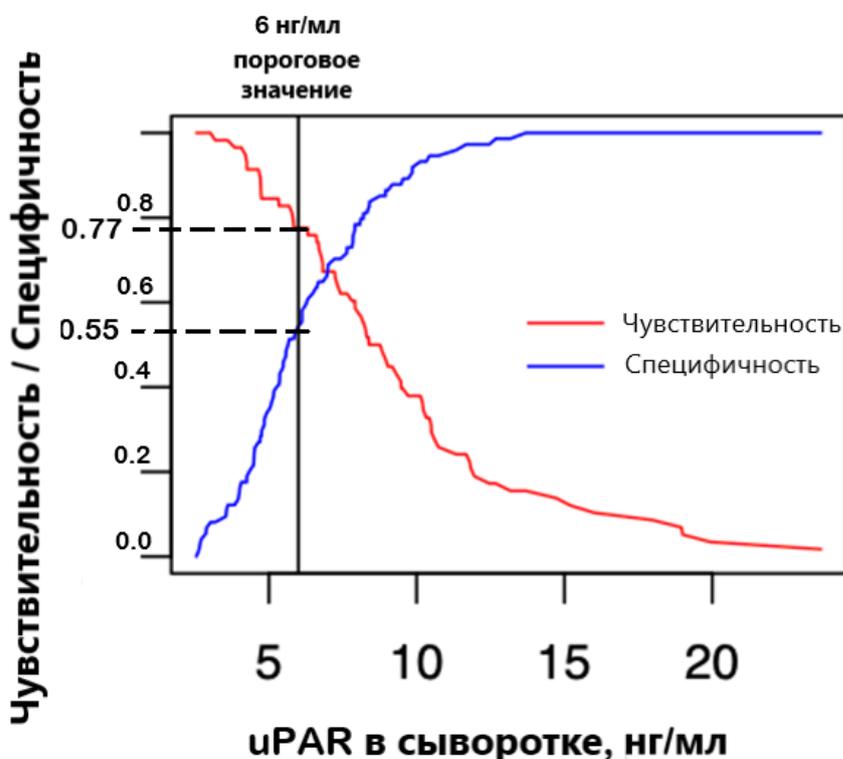


Рисунок 15. Чувствительность и специфичность для прогнозирования повреждения легких более 25%, вызванного COVID-19, при различных значениях uPAR в сыворотке крови.

3.5. Взаимосвязь концентрации uPAR в сыворотке крови с изучаемыми полиморфными вариантами генов

Продолжая логику исследования, в работе был выполнен анализ взаимосвязи показателя уровня растворимого белка uPAR в сыворотке крови больных с диагностированным COVID-19 и рассматриваемыми полиморфными вариантами генов *NOS3*, *SERPINE1*, *PLAU* и *PLAUR*. Результаты изучения связи генотипа с

поправкой на возраст и пол с уровнями растворимого uPAR в сыворотке крови у пациентов, включенных в исследование, представлены в Таблице 10.

Таблица 10. Связь генотипа с поправкой на возраст и пол с уровнями uPAR в сыворотке крови

Полиморфизм	Генотип	уровень uPAR, среднее значение \pm SEM	Средняя разница [95% ДИ]	p-значение
<i>NOS3</i> : -769 T>C	TT	7,57 \pm 0,5	0	0,28
	CT	7,26 \pm 0,45	-0,31 [-1,70 - 1,08]	
	CC	8,72 \pm 1,06	1,18 [-0,71 - 3,08]	
<i>NOS3</i> , rs1799983	GG	7,27 \pm 0,49	0	0,77
	GT	7,99 \pm 0,5	0,50 [-0,85 - 1,85]	
	TT	7,6 \pm 0,94	0,15 [-2,25 - 2,55]	
<i>SERPINE1</i> , rs1799768	4G4G	7,94 \pm 0,68	0	0,64
	4G5G	7,68 \pm 0,49	-0,44 [-2,00 - 1,11]	
	5G5G	7,13 \pm 0,57	-0,85 [-2,61 - 0,92]	
<i>PLAU</i> , rs2227564	CC	7,33 \pm 0,39	0	0,29
	CT	8,2 \pm 0,63	0,95 [-0,39 - 2,29]	
	TT	6,5 \pm 0,89	-1,07 -4,80 - 2,66]	
<i>PLAUR</i> , rs344781	TT	7,38 \pm 0,45	0	0,42
	TC	7,64 \pm 0,5	0,33 [-1,02 - 1,67]	
	CC	9,1 \pm 1,36	1,65 [-0,83 - 4,13]	
<i>PLAUR</i> , rs2302524	TT	7,56 \pm 0,39	0	0,44

	ТС	$7,98 \pm 0,64$	$0,30 [-1,18 - 1,78]$	
	СС	$5,61 \pm 0,85$	$-2,26 [-6,01 - 1,48]$	

Представленные данные получены для гипотезы о кодоминантной модели наследования; ДИ - доверительные интервалы, SEM - стандартная ошибка среднего.

Из данных Таблицы 10 следует, что в ходе проведенного исследования не обнаружено значимой связи между уровнем uPAR в сыворотке крови и носительством изучаемых полиморфных вариантов *PLAUR* (rs344781 и rs2302524) или другими протестированными полиморфными вариантами. На Рисунках 16 и 17 результаты изучения ассоциации изучаемых вариантов полиморфизма гена *PLAUR* представлены графически, приведены р-значения.

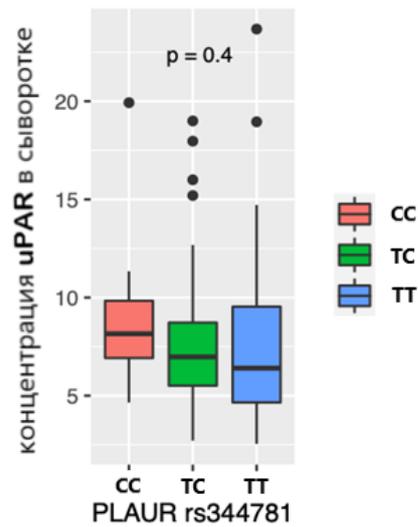


Рисунок 16. Ассоциация генотипов полиморфного варианта *PLAUR* rs344781 с уровнем uPAR в сыворотке крови, ANOVA. Показаны медианы концентрации suPAR (горизонтальные линии в блоках) для разных генотипов, нижние и верхние квартили (границы блоков), края статистически-значимой выборки (усы) и выбросы (точки).

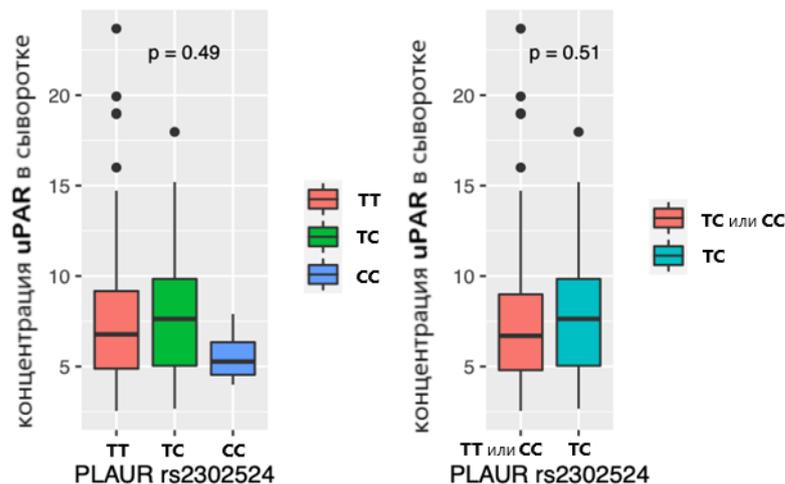


Рисунок 17. Ассоциация генотипов полиморфного варианта *PLAUR* rs2302524 с уровнем uPAR в сыворотке крови, ANOVA. Показаны медианы концентрации suPAR (горизонтальные линии в блоках) для разных генотипов, нижние и верхние квартили (границы блоков), края статистически-значимой выборки (усы) и выбросы (точки).

3.6. Интегральная модель оценки характера течения COVID-19 и прогнозирования тяжести повреждения легких

Суммарно и обобщенно результаты проведенного для когорты пациентов исследования стали основой для построения интегральной модели, позволяющей оценить характер течения заболевания, цель которой – прогноз тяжести поражения легких, обусловленного COVID-19. Для выявления независимых прогностических факторов тяжести повреждения легких, связанного с COVID-19, была проведена многофакторная логистическая регрессия. В качестве независимых переменных были взяты возраст, пол, уровень С-реактивного белка, уровень фибриногена, уровень D-димера, тромбиновое время и гетерозиготный генотип *PLAUR* rs2302524 (СТ) против двух вариантов гомозиготного генотипа (СС или ТТ). Таким образом, в построение модели включены факторы, показавшие прогностический потенциал в ходе данного исследования, и сделана поправка на возраст и пол. В качестве двоичной зависимой переменной в модель включена тяжесть поражения легких, вызванная COVID-19: «легкая» степень, при которой доля поражения легких составляет 25% или меньше, и «тяжелая» степень, при которой доля поражения легких составляет более 25%.

Результат построения модели представлен на Рисунке 18. Горизонтальные линии соответствуют отношению шансов проявления «тяжелой» по сравнению с «легкой» степени поражения легких для каждого из обозначенных выше параметров. В квадратных скобках указаны 95% доверительные интервалы. Уровень значимости результатов был принят как $p < 0,05$.

Переменная	Отношение шансов	Отношение шансов	p - значение
Возраст		1.00 [0.97, 1.04]	0.924
Пол	Ж	Reference	
	М	1.23 [0.45, 3.37]	0.678
СРБ		1.01 [1.00-1.02]	0.0099**
uPAR в сыворотке		1.22 [1.02-1.50]	0.044 *
<i>PLAUR</i> rs2302524	ТТ или СС	Reference	
	ТС	0.26 [0.07, 0.81]	0.028 *
Фибриноген		1.52 [1.02, 2.34]	0.047 *
Д - димер		0.98 [0.79, 1.21]	0.820
Тромбиновое время		1.02 [0.99, 1.06]	0.243

Рисунок 18. Модель многомерной логистической регрессии для факторов, связанных с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19

Среди включенных в описанную регрессионную модель факторов были обнаружены три показателя, которые являются независимыми предикторами «тяжелой» степени повреждения легких при COVID-19.

1. Для уровня С-реактивного белка отношение шансов составило 1,012 (95%ДИ: 1,003-1,022; $p = 0,00992$).
2. Для уровня растворимого uPAR в сыворотке крови отношение шансов составило 1,219 (95%ДИ: 1,016-1,498; $p = 0,0444$).
3. Для концентрации фибриногена отношение шансов вычислено как 1,517 (95%ДИ: 1,018-2,341; $p = 0,0477$).

Важным результатом построения модели стало то, что гетерозиготный генотип ТС гена *PLAUR* rs2302524 был установлен независимым предиктором «легкой» степени поражения легких при COVID-19. Для этого параметра отношение шансов определено как 0,258 (95%ДИ: 0,071-0,811; $p = 0,0276$).

Гомозиготный генотип СС полиморфизма гена *PLAUR* rs2302524 не показал статистически значимой взаимосвязи с определенной степенью поражения легких у пациентов, включенных в исследование (Таблица 6). В случае проведения многофакторной логистической регрессии с выбором в качестве независимой переменной генотип гена *PLAUR* rs2302524, содержащий минорную аллель (ТС

или СС) против генотипа, не содержащего полиморфный вариант (ТТ), статистическая значимость ассоциации носительства полиморфного варианта rs2302524 с определенной степенью поражения легких для данной когорты пациентов не была установлена. В данное исследование включены 5 пациентов, гомозиготных по минорной аллели rs2302524 гена *PLAUR* (Таблица 11), среднее значение процента поражения легких в этой группе пациентов составило 22,7%. По-видимому, такой малой выборки пациентов недостаточно для того, чтобы обнаружить ассоциацию гомозиготного СС генотипа с определенной степенью поражения легких у пациентов с COVID-19.

Таблица 11. Процент поражения легких у пациентов, гомозиготных по полиморфному варианту rs2302524 гена *PLAUR*.

№п/п	Пол	Год рождения	Генотип <i>PLAUR</i> rs2302524	Процент поражения легких (максимальное значение)
1	Ж	1963	СС	10
2	Ж	1950	СС	10
3	М	1953	СС	38,5
4	Ж	1956	СС	40
5	М	1972	СС	15

Таким образом, на основе проведенной оценки связи выбранных вариантов полиморфизма генов, отдельных лабораторных параметров крови и концентрации растворимого uPAR в сыворотке крови с тяжестью поражения легких нами (1) идентифицирован полиморфный вариант гена *PLAUR* rs2302524 как полиморфизм, в гетерозиготном генотипе достоверно ассоциированный с легкой степенью поражения легких у пациентов с COVID-19; среди изучаемых показателей анализа крови высокие уровни (2) растворимого uPAR, (3) СРБ и (4) фибриногена определены как независимые параметры тяжелого поражения легких при COVID-19.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное клиническое исследование, основанное на российской популяции, направлено на выявление первоначальных предикторов тяжести повреждения легких, связанного с COVID-19. В работе проведено одноцентровое ретроспективное когортное исследование 151 взрослого пациента в возрасте 24-96 лет с диагнозом COVID-19, подтвержденным путем взятия мазка из носоглотки с последующим анализом методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на SARS-CoV-2. Все включенные в исследование пациенты поступили в Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

4.1. Связь показателей гемостаза с тяжестью поражения легких, обусловленного COVID-19

В контексте предикторов тяжелого течения и осложнений при COVID-19 наиболее часто анализируются показатели гемостаза [144]. Следовательно, лабораторный анализ факторов нарушения свертываемости крови и воспаления занимает важнейшее место в ведении пациентов с COVID-19. За более чем два года всестороннего изучения биомаркёров крови, связанных с воспалением и нарушением гемостаза при COVID-19 исследователями были определены наиболее информативные факторы: количество тромбоцитов, количество лимфоцитов и нейтрофилов, прокальцитонин, интерлейкин-6, интерлейкин-17, фибриноген, D-димер, тропонин, креатинкиназа, аспартатаминотрансфераза, тромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ) и международное нормализованное отношение (МНО) [144-153]. Установлено, что высокие уровни фибриногена и продукта его распада D-димера в крови у пациентов с COVID-19 являются хорошо установленными прогностическими факторами высокого риска смертности [154-156]. Уровни фибриногена и D-димера у пациентов с тяжелой формой COVID-19 обычно имеют

тенденцию быть выше, чем у пациентов с легкими формами COVID-19. Аналогичная тенденция наблюдается у пациентов, госпитализированных в отделения интенсивной терапии (ОИТ), по сравнению с пациентами, не находящимися в ОИТ [155-157]. Согласно данным мета-анализа 2022 года, в который было включено 41 оригинальное исследование и 17601 пациент, уровни D-димера, фибриногена, длительность АЧТВ и ПВ были значительно выше в группе тяжелых пациентов с COVID-19 [158]. В ряде исследований более длительные ПВ и АЧТВ были связаны со смертностью от COVID-19 [156, 157, 159]. В то же время взаимосвязь высоких показателей длительности АЧТВ и ПВ с тяжелым течением заболевания у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 не подтверждается в ряде исследований. В частности, мета-анализ 2021 года, включивший в себя 13 исследований с участием 1341 взрослого пациента показал, что не выявлено корреляции между длительностью АЧТВ или ПВ и повышенным риском тяжести течения COVID-19 [160]. Также опубликованы работы, показывающие взаимосвязь меньшей длительности АЧТВ с тяжелым течением COVID-19 [156]. В данном исследовании для когорты, включающей 151 пациента, показано, что факторы активированного частичного тромбопластинового времени, тромбинового времени, фибриногена и D-димера значительно выше у пациентов с «тяжелой» формой поражения легких более 25% по сравнению с группой пациентов с «легкой» формой поражения легких. Для международного нормализованного отношения и протромбинового времени не выявлено достоверной взаимосвязи с тяжестью поражения легких у включенных в исследование пациентов. Также в представленной работе показано, что повышение уровня D-димера демонстрирует значительную положительную корреляцию с процентом поражения легких на КТ у госпитализированных пациентов с COVID-19, аналогичная корреляция выявлена для повышения уровня фибриногена.

Соотнесение полученных результатов с литературными данными показывает соответствие полученных данных в части ассоциации высоких уровней фибриногена и D-димера с тяжелыми формами COVID-19 опубликованным результатам клинических исследований и результатам мета-анализа. Выявленная в

настоящем исследовании ассоциация длительных активированного частичного тромбопластинового времени и тромбинового времени с тяжелым поражением легких при COVID-19 соответствует части опубликованных исследований и аналитических статей, но противоречит данным отдельных публикаций. Таким образом, данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Объединяя все полученные результаты, следует отметить, что в представленном анализе уровень фибриногена показал более сильную корреляцию с процентом поражения легких и лучшую прогностическую способность при прогнозировании «тяжелого» повреждения легких более 25% по сравнению с другими тестируемыми параметрами свертывания. В многофакторном анализе фибриноген был независимо связан с «тяжелым» повреждением легких при COVID-19. Представленные результаты подтверждают диагностическую важность фибриногена в прогнозировании и мониторинге повреждения легких, вызванного COVID-19, что полностью согласуется с выводами самого крупного на текущий момент систематического обзора и мета-анализа нарушений свертывания крови при COVID-19 [158], согласно которым двумя переменными с наибольшей связью с тяжестью заболевания были уровни D-димера и фибриногена. Также важно отметить, что показатель уровня фибриногена в крови является повсеместно доступным для рутинного лабораторного анализа, что также говорит в пользу практической значимости данного показателя.

4.2. Прогностические возможности уровня С-реактивного белка

Как было сказано выше, заражении SARS-CoV-2 вызывает выраженную воспалительную реакцию, степень которой в значительной степени коррелирует с тяжестью заболевания, часто с разрушительными последствиями, такими как гипервоспаление, цитокиновый шторм, повреждение тканей и полиорганная недостаточность [161]. В настоящее время ведется активный поиск новых перспективных биомаркёров течения COVID-19. С-реактивный белок (СРБ) — это белок острой фазы, традиционно используемый в качестве биомаркёра инфекции,

воспалительных процессов и сердечно-сосудистых событий [162]. Мониторинг уровня СРБ в крови предоставляет ценную прогностическую возможность при прогнозировании различной степени тяжести и смертности, связанных с COVID-19 [163-165]. Можно утверждать, что уровень С-реактивного белка наряду с параметрами общего анализа крови является наиболее изученным показателем воспалительной реакции [166, 167]. И именно уровень СРБ, согласно временным рекомендациям по лечению новой коронавирусной инфекции в Российской Федерации [140], выбран ключевым лабораторным биомаркёром-индикатором начала противовоспалительной терапии. Данные проведенного в этой работе исследования показывают, что средний уровень СРБ был почти в три раза выше в группе пациентов с «тяжелой» степенью поражения легких по сравнению с группой пациентов «легкой» степени поражения легких при COVID-19. Уровень СРБ в крови положительно коррелировал с процентом поражения легких на компьютерной томографии у пациентов с COVID-19. Также на основании ROC-анализа подтверждена возможность использовать высокий показатель уровня СРБ в плазме крови для прогнозирования «тяжелого» повреждения легких. Важно отметить, что среди всех исследуемых факторов анализа крови в когорте пациентов, включенных в данное исследование, наилучшая прогностическая способность по данным ROC-анализа выявлена именно для уровня С-реактивного белка. При многофакторном анализе СРБ оставался независимо связанным с «тяжелой» степенью повреждения легких, связанного с COVID-19. Таким образом, ассоциация высокого уровня СРБ в крови с повышением степени поражения легких по данным КТ при COVID-19 согласуется с опубликованными ранее результатами аналогичных клинических исследований [166-170].

Несмотря на то, что доступность биохимических анализаторов для определения уровня СРБ ограничена в удаленных от региональных центров медицинских учреждениях, можно считать этот показатель крайне необходимым для выбора оптимальной тактики терапии при COVID-19.

4.3. Ассоциация полиморфизма гена *PLAUR* с тяжестью поражения легких при COVID-19

Известно, что *PLAUR* кодирует белок-рецептор урокиназы uPAR, а однонуклеотидный полиморфный вариант rs2302524 этого гена приводит миссенс-мутации uPAR Lys220Arg в третьем домене белка (DIII). Третий домен белка uPAR непосредственно участвует в связывании uPA [171]. Взаимодействуя с uPA, uPAR играет решающую роль в выработке сериновой протеазы плазмينا [172, 173]. Таким образом, изменение экспрессии uPAR может приводить к изменению реологических свойств крови и нарушению процессов фибринолиза. Белок uPAR, экспрессируемый на поверхности клеток и выступающий в роли рецептора урокиназы, связан с целым рядом физиологических процессов, включая дифференцировку клеток, пролиферацию, миграцию и фибринолиз [172, 173]. Он также может быть вовлечен в патогенез ремоделирования дыхательных путей, повреждения легких, легочного фиброза [2, 174, 175], что повышает вероятность того, что uPAR является важным фактором при респираторных заболеваниях [176-178].

Как было сказано выше, во многих современных клинических исследованиях установлен гиперкоагуляционный и гипофибринолитический статус у пациентов с COVID-19 [6, 64, 78-80, 82, 83, 86, 105, 106, 108]. Однако далеко не все пациенты укладываются в данную тенденцию, и в ряде исследований получены противоположные результаты [74-76, 99]. Такое несоответствие, вероятно, обусловлено генетическими особенностями организма. В данном контексте ключевое значение имеет индивидуальная генетическая структура, определяемая полиморфными вариациями гена *PLAUR*, кодирующего белок uPAR.

В настоящее время появляется все больше доказательств того, что определенные генотипы могут играть существенную роль в определении предрасположенности к более тяжелому клиническому течению COVID-19 [179-182]. Общая предпосылка таких исследований заключается в том, что тяжесть COVID-19 (по крайней мере, частично) генетически детерминирована у каждого

инфицированного индивидуума и что индивидуальная генетическая изменчивость может объяснить различные реакции на вирусную инфекцию в популяции.

В нашем исследовании было обнаружено, что однонуклеотидный полиморфизм гена *PLAUR* rs2302524 независимо ассоциирован с меньшей тяжестью поражения легких у пациентов с COVID-19. В частности, гетерозиготный генотип TC полиморфизма *PLAUR* rs2302524 по результатам исследования независимо связан с «легкой» степенью поражения легких.

Соотнесение этого результата с опубликованными ранее данными позволяет понять, что rs2302524 ассоциирован с особенностями функционирования и течения заболеваний дыхательной системы. Показано, что полиморфный вариант *PLAUR* rs2302524 связан с восприимчивостью к астме и снижением функции легких при астме [183] и пролиферацией базального эпителия у лиц, страдающих астмой [184]. В работе Stewart C.E. et al. показано, что данный полиморфизм не только является ассоциированным с астмой вариантом гена *PLAUR*, но также влияет на исходную функцию легких у курильщиков [33]. Необходимо отметить, что о функциональном и клиническом значении данного полиморфизма известно мало. Молекулярный механизм, объясняющий значение замены одной аминокислоты Lys220Arg в uPAR, влияние этой мутации на количество и (или) свойства белка, обеспечивающие выполнение его функции, как рецептора урокиназы, влияние на локализацию и стимулировании образования плазмينا еще предстоит изучить. Также в литературе отсутствуют данные о взаимосвязи полиморфизма *PLAUR* rs2302524 с особенностями течения COVID-19.

Несомненно, рутинное генотипирование не может являться обязательной процедурой для всех пациентов, зараженных коронавирусом SARS-CoV-2. Показатели крови, безусловно, более доступны и информативны для оценки и прогнозирования течения заболевания и выбора стратегии лечения пациентов с поражениями органов дыхательной системы. Однако как в условиях пандемии COVID-19, так и с целью выработки долгосрочных эффективных стратегий лечения пациентов с острыми респираторными заболеваниями понимание

взаимосвязи индивидуальных генетических особенностей пациентов, несомненно, важно для понимания молекулярных механизмов развития болезни.

Полученные в этой работе результаты впервые указывают на то, что ранняя диагностика, основанная на анализе носительства rs2302524 однонуклеотидного полиморфизма гена *PLAUR*, может сыграть важную роль для оценки прогноза тяжести течения и возможных осложнений в виде тяжелого поражения легких при COVID-19.

4.4. Диагностическая ценность и прогностическая значимость уровня uPAR в сыворотке крови

При воспалительных стимулах uPAR расщепляется урокиназой или другими внеклеточными протеазами, и его растворимая форма высвобождается в кровотоки [26, 185]. Растворимая форма uPAR (suPAR) имеет три формы: suPAR DI-III, suPAR DI, и suPAR DI-III. Активной формой рецептора, способной связывать циркулирующие в крови молекулы uPA, является suPAR DI-III. Увеличение сывороточной концентрации suPAR происходит, как правило, при чрезмерном разрушении или обновлении клеток [40], уровни uPAR в плазме отражают иммунную активацию в ответ на бактериальную или вирусную инфекцию, рак, ожоги и ревматические заболевания [186], что позволяет предполагать увеличение концентрации растворимой формы uPAR в крови в связи с течением воспалительного процесса в соединительной ткани паренхимы легких и в стенках альвеол в ходе развития интерстициальной пневмонии.

В настоящей работе продемонстрировано, что уровень uPAR в сыворотке крови положительно коррелирует с процентом поражения легких у пациентов с COVID-19. Также показано, что уровень концентрации uPAR в крови пациента может быть использован для прогнозирования повреждения легких более 25%, что соответствует группе пациентов с «тяжелой» степенью поражения легких по результатам компьютерной томографии. Кроме того, в исследовании посредством многофакторного анализа показано, что уровень uPAR независимо связан с

тяжестью поражения легких у пациентов с диагностированным COVID-19. Этот результат согласуется с ранее опубликованными исследованиями, которые продемонстрировали, что уровни белка uPAR в сыворотке крови может служить ранним предиктором клинической тяжести и неблагоприятного исхода у пациентов с COVID-19 [45, 46, 48, 187]. Определение концентрации растворимого uPAR в сыворотке крови, которое в настоящее время доступно в продаже по разумной цене, постоянно внедряется в клиническую практику. В связи с относительной простотой измерения сывороточной концентрации suPAR именно она используется в качестве показателя активности системы uPA/uPAR на фоне COVID-19 в большинстве клинических исследований. [44-48, 50-52]. Скрининг uPAR, а именно, его растворимой формы suPAR был рекомендован для прогнозирования риска неблагоприятных исходов у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии, с целью улучшения ранней диагностики и ведения сепсиса в работе группы экспертов в области медицины интенсивной терапии, неотложной медицины, внутренних болезней и инфекционных заболеваний [142]. В клиническом исследовании третьей фазы COVID-19 высокий уровень suPAR в сыворотке крови (пороговое значение ≥ 6 нг/мл) использовался для выявления пациентов с риском прогрессирования дыхательной недостаточности [188]. Полученные в представленном исследовании результаты согласуются с ранее опубликованными данными и подтверждают, что ранее предложенное пороговое значение 6 нг/мл для уровня uPAR в сыворотке крови обеспечивает 77% чувствительности и 55% специфичности для прогнозирования «тяжелого» (более 25%) повреждения легких. Таким образом, полученные данные демонстрируют диагностическую ценность уровня uPAR в сыворотке крови для определения рисков тяжелого повреждения легких у пациентов с COVID-19 и их стратификации.

Существенно, что концентрация uPAR в сыворотке показывает высокую прогностическую значимость в исследованиях в сравнении с другими показателями. В исследовании David T Arnold и др. концентрация suPAR продемонстрировала максимальную клиническую значимость в прогнозировании

тяжести COVID-19 среди концентраций девяти факторов, проанализированных в крови: интерлейкин-6, suPAR, высокомолекулярный гликопротеин KL-6, тропонин, ферритин, ЛДГ, мозговой натрийуретический пептид, прокальцитонин [46]. В данном исследовании, в которое были включены 186 пациентов, установлено, что по прогностической способности уровень растворимой форме uPAR уступает концентрации С-реактивного белка, но сопоставим с уровнями фибриногена и D-димера. Также в рамках работы показано, что уровень концентрации белка suPAR в сыворотке крови пациентов с COVID-19 положительно коррелирует с уровнем концентрации С-реактивного белка. На этих основаниях можно утверждать, что показатель уровня uPAR имеет высокую прогностическую значимость при прогнозировании тяжелого течения COVID-19.

В тоже время важно отметить, что в исследовании Kergel V. et al. в 2021 году, в которое были включены 102 пациента, получены данные, согласно которым при средней степени тяжести заболевания концентрация suPAR при поступлении в стационар значительно выше, чем при тяжёлой [50]. По-видимому, продолжая изучать активности системы uPA/uPAR у пациентов с COVID-19, необходимо принимать во внимание не только степень повреждения тканей по результатам КТ, но и интенсивность процессов регенерации тканей, активность иммунных реакций. Возможно, при существенном влиянии этих процессов на течение заболевания ассоциация высокого уровня uPAR в сыворотке крови с тяжелой степенью повреждения легких при COVID-19 может нарушаться.

Таким образом, в данной работе впервые на российской популяции больных показана целесообразность определения растворимой формы uPAR как прогностического маркера – инструмента оценки риска пациентов в отношении тяжести поражения легких при COVID-19, и это согласуется с опубликованными данными зарубежных клинических исследований.

4.5. Интеграция данных о прогностических возможностях полиморфного варианта гена *PLAUR* rs2302524 и уровня растворимой формы uPAR

Опубликованное исследование общегеномных ассоциаций в 2020 году у когорты из 5457 пациентов старше 65 лет в Исландии в сочетании с анализом белков сыворотки крови позволило предположить, что аллельный вариант гена *PLAUR* rs2302524 может влиять на уровень uPAR в сыворотке крови [189]. В 2021 году этот вывод был поставлен под сомнение, поскольку, с помощью анализа на основе аптамеров, исследователи первоначально показали, что замена аминокислоты в белковом продукте гена *PLAUR* Lys220Arg, которая является следствием полиморфизма rs2302524, потенциально может привести к искусственным ассоциациям определенного генотипа с уровнями белка suPAR. Данный результат получен с помощью мультиплексной протеомной платформы, основанной на медленных модифицированных аптамерах, использующих SOMAScan [190]. Однако далее в том же исследовании было установлено, что взаимосвязь полиморфизма *PLAUR* rs2302524 не была значимой по результатам иммуноферментного анализа на основе ELISA. В части обсуждения данного исследования Olson N.C. et al. предположили, что установленная помощью анализа SOMAScan взаимосвязь *PLAUR* rs2302524 с уровнем suPAR являлась искусственной и обусловлена артефактом связывания эпитопа [190]. С аналогичными ситуациями сталкивались авторы в ходе других генетических исследований, включающих в себя количественное определение белков плазмы крови [191, 192].

Результаты настоящего исследования согласуются с выводом о том, что полиморфный вариант *PLAUR* rs2302524 не связан с уровнем uPAR в сыворотке крови. В частности, для генотипов TT, TC и CC средняя разница уровней uPAR в сыворотке не достоверна. Также не обнаружено значимой связи между уровнем uPAR для группы, объединяющей генотипы TT и CC, относительно

гетерозиготного генотипа TC, ассоциированного с «легкой» степенью поражения легких при COVID-19.

В связи с этим предполагается, что полиморфизм *PLAUR* rs2302524 скорее влияет на функционирование своего белкового продукта uPAR в тканях, участвует в процессах, вызывающих повреждение паренхимы и стенок альвеол, и в процессах, усугубляющих повреждение тканей. Возможно, вариант rs2302524 гена *PLAUR*, приводящий к замене одной аминокислоты Lys220Arg в белке uPAR, способен препятствовать чрезмерному разрушению клеток, в том числе эндотелиальных, на фоне воспаления, прогрессирующего под действием растворимой активной формы suPAR. В то же время полученные результаты приводят к пониманию не связанности данного однонуклеотидного полиморфизма с уровнем экспрессии белка uPAR или процессом секреции растворимой формы uPAR в кровь.

С учетом того, что увеличение сывороточной концентрации uPAR происходит, как правило, при чрезмерном разрушении или обновлении клеток [51, 52], можно утверждать по результатам представленного исследования, что повышение концентрации растворимой формы белка uPAR в сыворотке крови является прямым показателем иммунной активации, которая значительно и независимо коррелирует с тяжелыми формами интерстициальной пневмонии у пациентов с диагностированным COVID-19.

4.6. Ограничения и перспективы использования результатов

Данное исследование имеет некоторые ограничения. Во-первых, полученные результаты могут быть ограничены размером выборки. Во-вторых, не все лабораторные тесты были проведены у всех пациентов, однако данные отсутствовали совершенно случайным образом, и никакой информации о сопутствующих заболеваниях в исследуемой когорте не имеется. В-третьих, когорта может быть не полностью репрезентативной, поскольку исследование

проводилось в одном медицинском центре. Следовательно, интерпретация полученных результатов может быть ограниченной.

Однако, данная работа выявляет несколько ключевых тенденций, которые следует дополнительно учитывать в отношении изучения факторов тяжести повреждения легких, вызванного COVID-19. Из анализа данных открытых источников следует, что это первое ретроспективное когортное исследование в России, в котором изучалась взаимосвязь между специфическими полиморфными вариантами генов, уровнем uPAR в сыворотке крови, параметрами лабораторного анализа крови и процентом поражения легких при компьютерной томографии у пациентов с COVID-19. Полученные результаты могут послужить обоснованием для тестирования этих новых параметров в качестве многообещающих индикаторов тяжести COVID-19 и поиска перспективных терапевтических стратегий в целях улучшения результатов лечения пациентов. Определение факторов риска тяжести заболевания COVID-19 может помочь в ранней стратификации пациентов и скорейшем проведении надлежащего лечения, улучшении результатов лечения пациентов и снижении нагрузки на систему здравоохранения.

ВЫВОДЫ

1. Анализируемые варианты генов *NOS3*, *SERPINE1*, *PLAU* и вариант rs344781 гена *PLAUR* распределены в группах пациентов легкой и тяжелой степени поражения легких, обусловленного COVID-19, без статистически значимых различий.

2. Гетерозиготный генотип TC полиморфного варианта гена *PLAUR* rs2302524, вызывающего миссенс-мутацию Lys220Arg, является достоверно ассоциированным с легкой степенью поражения легких у пациентов с COVID-19.

3. Носительство варианта гена *PLAUR* rs2302524, ассоциированного с легкой степенью повреждения легких при COVID-19, не связано с концентрацией растворимой формы его белкового продукта uPAR в сыворотке крови.

4. Сывороточная концентрация растворимой формы белка uPAR достоверно ассоциирована с тяжелой степенью поражения легких у пациентов с COVID-19.

5. Построена интегральная модель, определяющая гетерозиготный генотип TC полиморфного варианта rs2302524 гена *PLAUR* как независимый предиктор легкого поражения легких у пациентов с COVID-19; определяющая высокие уровни растворимого uPAR, С-реактивного белка и фибриногена как независимые предикторы тяжелого поражения легких у пациентов с COVID-19.

Практические рекомендации

1. Необходимо проведение дальнейших исследований по выявлению генетических факторов, ассоциированных с тяжестью течения заболевания у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

2. Высокие уровни растворимой формы uPAR, С-реактивного белка и фибриногена в плазме крови могут быть использованы в качестве предикторов тяжелого течения COVID-19.

3. Ассоциация ТС генотипа *PLAUR* rs2302524 с меньшим повреждением легких может быть принята во внимание как предиктор благоприятного прогноза и использована для выбора оптимальной тактики лечения пациентов с COVID-19.

Список сокращений и обозначений

- ANOVA — односторонний дисперсионный анализ
- AUC — площадь под ROC-кривой
- CM-MDM — активированная среда макрофагов, полученных из моноцитов человека
- COVID-19 — потенциально тяжелая острая респираторная инфекция, вызванная коронавирусом SARS-Cov-2
- ELISA — иммуноферментный анализ
- EM — алгоритм максимизации ожиданий
- eNOS — эндотелиальная синтаза оксида азота
- FPR — ложноположительный показатель
- gnomAD — база данных с агрегированными сведениями о геномах
- ICAM-1 — молекула клеточной адгезии 1
- iNOS — индуцируемая синтаза оксида азота
- KL-6 — высокомолекулярный гликопротеин, входящий в состав муцина, выделяемого альвеолярными клетками II типа
- Na₂-ЭДТА — динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты
- NCT — идентификатор базы данных ClinicalTrials.gov
- NO — оксид азота(II)
- NOS — синтаза оксида азота
- PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1 типа
- PaO₂/FiO₂ — индекс оксигенации (отношение парциального напряжения кислорода в артериальной крови к фракции кислорода на вдохе)

РІС — комплекс плазмин- α 2-антиплазмин или плазмин-ингибиторный комплекс

SEM — стандартная ошибка среднего

suPAR — растворимая форма рецептора урокиназы

TMPRSS2 — Transmembrane protease, serine2, мембранно-связанная сериновая протеаза

tPA — тканевой активатор плазминогена

TPR — истинно положительный показатель

UK-TEG — модифицированная урокиназой тромбоэластография

uPA — урокиназный активатор плазминогена, урокиназа

uPAR — рецептор урокиназы

VCAM-1 — васкулярная молекула клеточной адгезии 1

XWE — равновесие Харди-Вайнберга

АГ — артериальная гипертензия

АД — артериальное давление

АПФ2 — ангиотензинпревращающий фермент 2

АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время

ДВС — диссеминированное внутрисосудистое свёртывание

ДИ — доверительный интервал

ИБС — ишемическая болезнь сердца

ИКА — информационный критерий Акаике

ИМТ — индекс массы тела

ИМТ — индекс массы тела

КТ — компьютерная томография

ЛДГ — лактатдегидрогеназа

МНО — международное нормализованное отношение

МНОЦ МГУ — Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

ОАР — отделение анестезиологии и реанимации

ОДН — острая дыхательная недостаточность

ОПН — острая почечная недостаточность

ОПП — острое повреждение почек

ОР — отношение рисков

ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром

ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии

ОШ — отношение шансов

ПВ — протромбиновое время

ПЦР — полимеразная цепная реакция

СД — сахарный диабет

СРБ — С-реактивный белок

США — Соединенные Штаты Америки

ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь лёгких

ЧСС — частота сердечных сокращений

ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Farghaly, S. Clinical characteristics and outcomes of post-COVID-19 pulmonary fibrosis: A case-control study / S. Farghaly, M. Badedi, R. Ibrahim, M. H. Sadhan, A. Alamoudi, A. Alnami, A. Muhajir // *Medicine. United States.* - 2022. - Vol. 101, № 3. - P. e28639.
2. D'Alonzo, D. COVID-19 and pneumonia: a role for the uPA/uPAR system / D. D'Alonzo, M. De Fenza, V. Pavone // *Drug discovery today.* - 2020. - Vol. 25, № 8. - P. 1528–1534.
3. Mahamat-Saleh, Y. Diabetes, hypertension, body mass index, smoking and COVID-19-related mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies / Y. Mahamat-Saleh, T. Fiolet, M. E. Rebeaud, M. Mulot, A. Guihur, D. El Fatouhi, N. Laouali, N. Peiffer-Smadja, D. Aune, G. Severi // *BMJ open.* - 2021. - Vol. 11, № 10. - P. e052777.
4. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19 // *Nature.* - 2021. - Vol. 600, № 7889. - P. 472–477.
5. Pontone, G. Role of computed tomography in COVID-19 / G. Pontone, S. Scafuri, M.E. Mancini, C. Agalbato, M. Guglielmo, A. Baggiano, G. Muscogiuri, L. Fusini, D. Andreini, S. Mushtaq, E. Conte, A. Annoni, A. Formenti, A.G. Gennari, A.I. Guaricci, M.R. Rabbat, G. Pompilio, M. Pepi, A. Rossi // *J Cardiovasc Comput Tomogr.* - 2021. - Vol.15, №1. - P. 27–36.
6. Paramo, J.A. Microvascular thrombosis and clinical implications / J.A. Paramo // *Medicina clinica. Spain.* - 2021. - Vol. 156, № 12. - P. 609–614.
7. Hou, Y. Fibrinolysis influences SARS-CoV-2 infection in ciliated cells / Y. Hou, Y. Ding, H. Nie, H. L. Ji // *bioRxiv: the preprint server for biology.* - 2021.
8. Pearson, J.D. Normal endothelial cell function / J.D. Pearson // *Lupus. England.* - 2000. - Vol. 9, № 3. - P. 183–188.
9. Botts, S.R. Dysfunctional Vascular Endothelium as a Driver of Atherosclerosis: Emerging Insights Into Pathogenesis and Treatment / S.R. Botts, J.E. Fish, K.L. Howe // *Frontiers in pharmacology.* - 2021. - Vol. 12. - P. 787541.

10. Prasad, M. Viral Endothelial Dysfunction: A Unifying Mechanism for COVID-19 / M. Prasad, M. Leon, L. O. Lerman, A. Lerman // Mayo Clinic proceedings. - 2021. - Vol. 96, № 12. - P. 3099–3108.

11. Alvarado-Moreno, J.A. Morphological and functional alterations in endothelial colony-forming cells from recovered COVID-19 patients / J.A. Alvarado-Moreno, J. Davila-Moreno, V. Dominguez-Reyes, R. Arreola-Diaz, I. Isordia-Salas, A. Chavez-Gonzalez, A. Majluf-Cruz // Thrombosis research. - 2021. - Vol. 206. - P. 55–59.

12. Bugra, A. Postmortem pathological changes in extrapulmonary organs in SARS-CoV-2 rt-PCR-positive cases: a single-center experience / A. Bugra, T. Das, M. N. Arslan, N. Ziyade, Y. Buyuk // Irish journal of medical science. - 2021. - P. 1–11.

13. Zarkasi, K. A. Coronary Heart Disease in Type 2 Diabetes Mellitus: Genetic Factors and Their Mechanisms, Gene-Gene, and Gene-Environment Interactions in the Asian Populations / K. A. Zarkasi, N.A. Abdul Murad, N. Ahmad, R. Jamal, N. Abdullah // International journal of environmental research and public health. Switzerland. - 2022. - Vol. 19, № 2.

14. Balta, G. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs / G. Balta, C. Altay, A. Gurgey // American journal of hematology. United States. - 2002. - Vol. 71, № 2. - P. 89–93.

15. Guo, X. Investigation of the genetic variation in ACE2 on the structural recognition by the novel coronavirus (SARS-CoV-2) / X. Guo, Z. Chen, Y. Xia, W. Lin, H. Li // Journal of translational medicine. - 2020. - Vol. 18, № 1. - P. 321.

16. Рубина, К.А. Рецепторы протеолитических ферментов и адипонектина как потенциальные мишени лекарственной терапии COVID-19 / К.А. Рубина, Н.Р. Сабитова, А.Ю. Ефименко, Н.И. Калинина, Ж.А. Акопян, Е.В. Семина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2021. - Том 20, №3. - С. 2791.

17. Schuliga, M. The fibrogenic actions of the coagulant and plasminogen activation systems in pulmonary fibrosis / M. Schuliga, C. Grainge, G. Westall, D. Knight // Int J Biochem Cell Biol. - 2018. - № 97: - P. 108–17.

18. Panigada, M. Normal Response to Fibrinolytic Challenge in COVID-19 Patients: Viscoelastic Evaluation Using Urokinase-Modified Thromboelastography / M.

Panigada, A. Meli, P. Properzi, G. Grasselli, G.E. Iapichino // *Journal of the American College of Surgeons*. - 2021. - Vol. 232, № 5. - P. 803–805.

19. Devaux, C.A. ACE2 receptor polymorphism: Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome / C.A. Devaux, J.-M. Rolain, D. Raoult // *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. - 2020. - Vol. 53, № 3. - P. 425–435.

20. Portales, A.E. ACE2 internalization induced by a SARS-CoV-2 recombinant protein is modulated by angiotensin II type 1 and bradykinin 2 receptors / A.E. Portales, E.R. Mustafá, C.I. McCarthy, M.P. Cornejo, P.M. Couto, M.M. Gironacci, J.J. Caramelo, M. Perelló, J. Raingo // *Life sciences*. - 2022. - Vol. 293. - P. 120284.

21. Clowes, A.W. Smooth muscle cells express urokinase during mitogenesis and tissue-type plasminogen activator during migration in injured rat carotid artery / A.W. Clowes, M.M. Clowes, Y.P. Au, M.A. Reidy, D. Belin // *Circ Res*. - 1990. - Vol. 67. № 1. - P. 61–7.

22. Tkachuk, V. Regulation and role of urokinase plasminogen activator in vascular remodelling / V. Tkachuk, V. Stepanova, P.J. Little, A. Bobik // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. - 1996. - Vol. 23, № 9. - P. 759–65

23. Estreicher, A. The receptor for urokinase type plasminogen activator polarizes expression of the protease to the leading edge of migrating monocytes and promotes degradation of enzyme inhibitor complexes / A. Estreicher, J. Mühlhauser, J.L. Carpentier, L. Orci, J.D. Vassalli // *J Cell Biol* – 1990. – Vol. 111, № 2. - P. 783–792.

24. Ploug, M. Structure-function relationships in the interaction between the urokinase-type plasminogen activator and its receptor Shibeke / M. Ploug // *Current Pharmaceutical Design*. - 2003. - Vol. 9, № 19.

25. Ткачук, В.А. Участие урокиназы и ее рецептора в ремоделировании тканей в норме и при патологии / В.А. Ткачук, В.В. Степанова, Е.А. Волынская // *Вестник Российской академии медицинских наук*. - 1998. - № 8. - С. 36–41.

26. Mahmood, N. Multifaceted role of the urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its receptor (uPAR): diagnostic, prognostic, and Therapeutic Applications / N.

Mahmood, C. Mihalcioiu, S.A. Rabbani // *Frontiers in Oncology*. - 2018. - Vol. 12, № 8. - P. 24.

27. Ткачук, В.А. Фибринолитики: от разрушения тромбов до процессов роста и ремоделирования сосудов, нейрогенеза, канцерогенеза и фиброза / В.А. Ткачук, Е.В. Парфенова, О.С. Плеханова, В.В. Степанова, М.Ю. Меньшиков, Е.В. Семина, Р.Ш. Бибилашвили, Е.И. Чазов // *Терапевтический архив*. - 2019. - Том. 91, №9. - С. 4–9.

28. Kadir, R.R.A. Urokinase Plasminogen Activator: A Potential Thrombolytic Agent for Ischaemic Stroke / R.R.A. Kadir, U. Bayraktutan // *Cellular and molecular neurobiology*. United States/ - 2020. - Vol. 40, № 3. - P. 347–355.

29. Krakowian, M. Rheolytic thrombectomy with local thrombolysis in a patient with COVID-19 pneumonia and acute pulmonary embolism / M. Krakowian, M. Machowski, M. Potępa, E. Zawadzka-Bartczak, P. Pruszczyk, M. Roik // *Polish archives of internal medicine*. Poland. - 2021. - Vol. 131, № 3. - P. 292–294.

30. Duran, J. The PLAU P141L single nucleotide polymorphism is associated with collateral circulation in patients with coronary artery disease / J. Duran, P. Sánchez-Olavarría, M. Mola, V. Götzens, J. Carballo, E. Martín-Pelegrina, M. Petit, B. García Del Blanco, D. García-Dorado, J.M. de Anta // *Revista espanola de cardiologia (English ed.)*. Spain. - 2014. - Vol. 67, № 7. - P. 552–557.

31. Begin, P. Association of urokinase-type plasminogen activator with asthma and atopy / P. Begin, K. Tremblay, D. Daley, M. Lemire, S. Claveau, C. Salesse, S. Kacel, A. Montpetit, A. Becker, M. Chan-Yeung, A.L. Kozyrskyj, T.J. Hudson, C. Laprise // *Am J Respir Crit Care Med*. - 2007. - Vol. 175, № 11. - P. 1109–16.

32. Wu, W. Meta-analysis of the association between urokinase-plasminogen activator gene rs2227564 polymorphism and Alzheimer's disease / W. Wu, H. Jiang, M. Wang, D. Zhang // *American journal of Alzheimer's disease and other dementias*. United States. - 2013. - Vol. 28, № 5. - P. 517–523.

33. Stewart, C.E. PLAUR polymorphisms and lung function in UK smokers / C.E. Stewart, I.P. Hall, S.G. Parker, M.F. Moffat, A.J. Wardlaw, M.J. Connolly, C. Ruse, I. Sayers // *BMC Medical Genetics*. - 2009. - Vol. 10. - P. 112.

34. Xu, Z. Association between the polymorphisms of urokinase plasminogen activation system and cancer risk: a meta-analysis / Z. Xu, L.L. Meng, J. Lin, Y. Ling, S.X. Chen, N. Lin // *OncoTargets and therapy*. - 2015. - Vol. 8. - P. 2493–2502.

35. Балацкий, А.В. Ассоциация молекулярно-генетических факторов с признаками нестабильности атеросклеротических поражений / А.В. Балацкий, Л.М. Самоходская, С.А. Бойцов, В.А. Ткачук // *Российский кардиологический журнал*. - 2018. - № 8. - С. 32–38.

36. Shih, C.M. Association of polymorphisms in the genes of the urokinase plasminogen activation system with susceptibility to and severity of non-small cell lung cancer / C.M. Shih, W.H. Kuo, C.W. Lin, W. Chen, W.E. Cheng, S.C. Chen, Y.L. Lee // *Clin Chim Acta*. - 2011. - Vol. 412, № 1–2. - P.194–8.

37. Климович, П.С. Возможность использования белков урокиназной системы как оптимальных дифференциально-диагностические критериев у пациентов с онкологическими заболеваниями ЖКТ / П.С. Климович, В.В. Какоткин, М.А. Агапов, Е.В. Семина // *Злокачественные опухоли*. - 2021. - Том. 11, № 3S1. - С. 76–77.

38. Shmakova, A.A. Urokinase Receptor uPAR Downregulation in Neuroblastoma Leads to Dormancy, Chemoresistance and Metastasis / A.A. Shmakova, P.S. Klimovich, K.D. Rysenkova, V.S. Popov, A.S. Gorbunova, A.A. Karpukhina, M.N. Karagyaur, K.A. Rubina, V.A. Tkachuk, E.V. Semina // *Cancers*. [Электронный ресурс] - 2022. № 14. - P. 994. - Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/cancers14040994>.

39. Mast, A.E. SARS-CoV-2 suppresses anticoagulant and fibrinolytic gene expression in the lung / A.E. Mast, A.S. Wolberg, D. Gailani, M.R. Garvin, C. Alvarez, J.I. Miller, P. Jones, B. Aronow, D. Jacobson // *eLife*. - 2021. - Vol. 10.

40. Lomholt, A.F. Intact and cleaved forms of the urokinase receptor enhance discrimination of cancer from non-malignant conditions in patients presenting with symptoms related to colorectal cancer / A.F. Lomholt, G. Høyer-Hansen, H.J. Nielsen, I.J. Christensen // *British journal of cancer*. - 2009. - Vol. 101, № 6. - P. 992–997.

41. Thunø, M. suPAR: The Molecular Crystal Ball / M. Thunø, B. Macho, J. Eugen-Olsen // *Disease Markers*. - 2009. - Vol. 27, № 3. - P.157-72.

42. Huai, Q. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor / Q. Huai, A.P. Mazar, A. Kuo, G.C. Parry, D.E. Shaw, J. Callahan, Y. Li, C. Yuan, C. Bian, L. Chen, B. Furie, B.C. Furie, D.B. Cines, M. Huang // *Science (New York, N.Y.). United States.* - 2006. - Vol. 311, № 5761. - P. 656–659.

43. Бобков, А.П. Роль системы комплемента в поражении почек у пациентов с covid-19 / А.П. Бобков, С.С. Стоянова, Л.Я. Французевич, А.Н. Алёшина, Е.А. Мершина, Л.М. Самоходская, Т.Н. Краснова, В.Е. Сеницын, Е.П. Павликова, А.А. Камалов // *Лечебное дело.* - 2021. - № 4. - С. 62–68.

44. Reisinger, A.C. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) predicts critical illness and kidney failure in patients admitted to the intensive care unit /A.C. Reisinger, T. Niedrist, F. Posch, S. Hatzl, G. Hackl, J. Prattes, G.Schilcher, A.M. Meißl, R.B. Raggam, M. Herrmann, P. Eller // *Scientific reports.* - 2021. - Vol. 11, № 1. - P. 17476.

45. Rovina, N. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as an early predictor of severe respiratory failure in patients with COVID-19 pneumonia / N. Rovina, K. Akinosoglou, J. Eugen-Olsen, S. Hayek, J. Reiser, E.J. Giamarellos-Bourboulis // *Critical care (London, England).* - 2020. - Vol. 24, № 1. - P. 187.

46. Arnold, D.T. Predicting outcomes of COVID-19 from admission biomarkers: a prospective UK cohort study / D.T. Arnold, M. Attwood, S. Barratt, A. Morley, K.T. Elvers, J. McKernon, C. Donald, A. Oates, A. Noel, A. MacGowan, N.A. Maskell, F.W. Hamilton // *Emergency medicine journal: EMJ.* - 2021. - Vol. 38, № 7. - P. 543–548.

47. Azam, T.U. Soluble Urokinase Receptor (SuPAR) in COVID-19-Related AKI / T.U. Azam, H.R. Shadid, P. Blakely, P. O'Hayer, H. Berlin, M. Pan, P. Zhao, L. Zhao, S. Pennathur, R. Pop-Busui, I. Altintas, J. Tingleff, M.A. Stauning, O. Andersen, M.E. Adami, N. Solomonidi, M. Tsilika, P. Tober-Lau, E. Arnaoutoglou, V. Keitel, F. Tacke, A. Chalkias, S.H. Loosen, E.J. Giamarellos-Bourboulis, J. Eugen-Olsen, J. Reiser, S.S. Hayek; International Study of Inflammation in COVID-19 // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* - 2020. - Vol. 31, № 11. - P. 2725–2735.

48. Huang, M. Plasma levels of the active form of suPAR are associated with COVID-19 severity / M. Huang, L. Li, J. Shen, Y. Wang, R. Wang, C. Yuan, M. Huang, L. Jiang // *Critical care* (London, England). - 2020. - Vol. 24, № 1. - P. 704.

49. De Bruin, S. Clinical features and prognostic factors in COVID-19: A prospective cohort study / S. De Bruin, L.D. Bos, M.A. van Roon, A.M. Tuip-de Boer, A.R. Schuurman, M.J.A. Koel-Simmelinck, H.J. Bogaard, P.R. Tuinman, M.A. van Agtmael, J. Hamann, C.E. Teunissen, W.J. Wiersinga, A.H. Koos Zwinderman, M.C. Brouwer, D. van de Beek, A.P.J. Vlaar; Amsterdam UMC COVID-19 Biobank Investigators // *EBioMedicine*. - 2021. - Vol. 67. - P. 103378.

50. Kerget, B. Evaluation of the relationship between KIM-1 and suPAR levels and clinical severity in COVID-19 patients: A different perspective on suPAR / B. Kerget, F. Kerget, A. Aksakal, S. Aşkın, E.Y. Uçar, L. Sağlam // *Journal of medical virology*. - 2021. - Vol. 93, № 9. - P. 5568–5573.

51. Lippi, G. Elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in COVID-19 patients / G. Lippi, B.M. Henry, E.J. Favaloro // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. German. - 2021. - Vol. 59, № 11. - P. e413–e415.

52. Velissaris, D. Evaluation of Plasma Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor Levels in Patients With COVID-19 and Non-COVID-19 Pneumonia: An Observational Cohort Study / D. Velissaris, M. Lagadinou, T. Paraskevas, E. Oikonomou, V. Karamouzos, S. Karteri, D. Bousis, N. Pantzaris, K. Tsiotsios, M. Marangos // *Journal of clinical medicine research*. - 2021. - Vol. 13, № 9. - P. 474–478.

53. Foley, J.H. Plasmin(ogen) at the Nexus of Fibrinolysis, Inflammation, and Complement / J.H. Foley // *Semin Thromb Hemost*. - 2017. - Vol. 43, №2. - P. 135–142.

54. Baron, A. Tissue-type plasminogen activator induces plasmin-dependent proteolysis of intracellular neuronal nitric oxide synthase / A. Baron, Y. Hommet, F. Cassé, D. Vivien // *Biol Cell*. - 2010. - Vol.102, №10. - P. 539–47.

55. Kathiresan, S. Common genetic variation in five thrombosis genes and relations to plasma he-mostatic protein level and cardiovascular disease risk / S. Kathiresan, Q. Yang, M.G. Larson, A.L. Camargo, G.H. Tofler, J.N. Hirschhorn, S.B. Gabriel, C.J. O'Donnell // *Arterioscler. thromb. vasc. biol*. - 2006. -Vol. 26, №6. - P. 1405–1412.

56. Maguire, J. Impact of COX-2 rs5275 and rs20417 and GPIIIa rs5918 polymorphisms on 90-day ischemic stroke functional outcome: a novel finding / J. Maguire, A. Thakkinstian, C. Levi, L. Lincz, L. Bisset, J. Sturm, R. Scott, S. Whyte, J. Attia // *J Stroke Cerebrovasc Dis.* - 2011. - Vol. 20, №2. - P.134–44.

57. Ladenvall, P. Tissue-type plasminogen activator -7351C/T enhancer polymorphism is associated with a first myocardial infarction / P. Ladenvall, L. Johansson, J.H. Jansson, S. Jern, T.K. Nilsson, A. Tjärnlund, C. Jern, K. Boman // *Thromb. haemost.* - 2002. - Vol. 87, №1. - P. 105109.

58. Huang, J. Genome-wide association study for circulating tissue plasminogen activator (tPA) levels and functional follow-up implicates endothelial STXBP5 and STX2 / J. Huang, J.E. Huffman, M. Yamakuchi, S. Trompet, F.W. Asselbergs, M. Sabater-Lleal, D.A. Trégouët, W.M. Chen, N.L. Smith, M.E. Kleber, S.Y. Shin, D.M. Becker, W. Tang, A. Dehghan, A.D. Johnson, V. Truong, L. Folkersen, Q. Yang, T. Oudot-Mellkah, B.M. Buckley, J.H. Moore, F.M. Williams, H. Campbell, G. Silbernagel, V. Vitart, I. Rudan, G.H. Tofler, G.J. Navis, A. Destefano, A.F. Wright, M.H. Chen, A.J. de Craen, B.B. Worrall, A.R. Rudnicka, A. Rumley, E.B. Bookman, B.M. Psaty, F. Chen, K.L. Keene, O.H. Franco, B.O. Böhm, A.G. Uitterlinden, A.M. Carter, J.W. Jukema, N. Sattar, J.C. Bis, M.A. Ikram; Cohorts for Heart and Aging Research in Genome Epidemiology (CHARGE) Consortium Neurology Working Group, M.M. Sale, B. McKnight, M. Fornage, I. Ford, K. Taylor, P.E. Slagboom, W.L. McArdle, F.C. Hsu, A. Franco-Cereceda, A.H. Goodall, L.R. Yanek, K.L. Furie, M. Cushman, A. Hofman, J.C. Witteman, A.R. Folsom, S. Basu, N. Matijevic, W.H. van Gilst, J.F. Wilson, R.G. Westendorp, S. Kathiresan, M.P. Reilly; CARDIoGRAM Consortium, R.P. Tracy, O. Polasek, B.R. Winkelmann, P.J. Grant, H.L. Hillege, F. Cambien, D.J. Stott, G.D. Lowe, T.D. Spector, J.B. Meigs, W. Marz, P. Eriksson, L.C. Becker, P.E. Morange, N. Soranzo, S.M. Williams, C. Hayward, P. van der Harst, A. Hamsten, C.J. Lowenstein, D.P. Strachan, C.J. O'Donnell // *Arterioscler. thromb. vasc. biol.* - 2014. - Vol. 34, №5. - P. 10931101.

59. Zuo, Y. Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients / Y. Zuo, M. Warnock, A. Harbaugh, S.

Yalavarthi, K. Gockman, M. Zuo, J.A. Madison, J.S. Knight, Y. Kanthi, D.A. Lawrence // *Scientific reports*. - 2021. - Vol. 11, № 1. - P. 1580.

60. Whyte, C.S. The suboptimal fibrinolytic response in COVID-19 is dictated by high PAI-1 / C.S. Whyte, M. Simpson, G.B. Morrow, C.A. Wallace, A.J. Mentzer, J.C. Knight, S. Shapiro, N. Curry, C.N. Bagot, H. Watson, J.G. Cooper, N.J. Mutch // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. - 2022. - Vol.20, № 10. - P. 2394-2406.

61. Marchetti, M. Fibrinolytic Proteins and Factor XIII as Predictors of Thrombotic and Hemorrhagic Complications in Hospitalized COVID-19 Patients / M. Marchetti, P. Gomez-Rosas, L. Russo, S. Gamba, E. Sanga, C. Verzeroli, C. Ambaglio, F. Schieppati, F. Restuccia, E. Bonanomi, M. Rizzi, S. Faggioli, A. D'Alessio, G.T. Gerotziafas, L. Lorini, A. Falanga // *Front Cardiovasc Med*. - 2022. - № 9. - P. 896362.

62. Sprengers, E.D. Inhibition of plasminogen activators by conditioned medium of human hepatocytes and hepatoma cell line Hep G2 / E.D. Sprengers, H.M. Princen, T. Kooistra, V.W. van Hinsbergh // *J Lab Clin Med*. - 1985. - Vol. 105, № 6. - P. 751–8.

63. Schleef, R.R. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. Role of plasminogen activator inhibitors / R.R. Schleef, D.J. Loskutoff // *Haemostasis*. - 1988. - Vol. 18 № 4–6. - P. 328-41.

64. Hammer, S. Severe SARS-CoV-2 Infection Inhibits Fibrinolysis Leading to Changes in Viscoelastic Properties of Blood Clot: A Descriptive Study of Fibrinolysis in COVID-19 / S. Hammer, H. Häberle, C. Schlensak, M. Bitzer, N.P. Malek, R. Handgretinger, P. Lang, S. Hörber, A. Peter, P. Martus, V. Mirakaj, M. Gawaz, T. Geisler, K. Althaus, P. Rosenberger, T. Bakchoul // *Thrombosis and haemostasis*. Germany. - 2021. - Vol. 121, № 11. - P. 1417–1426.

65. Parpugga, T.K. The effect of PAI-1 4G/5G polymorphism and clinical factors on coronary artery occlusion in myocardial infarction / T.K. Parpugga, V. Tatarunas, V. Skipskis, N. Kupstyte, D. Zaliaduonyte-Peksiene, V. Lesauskaite // *Dis. markers*. [Электронный ресурс] - 2015. - Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4529953/>.

66. Dawson, S. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review / S. Dawson, A. Henney // *Atherosclerosis*. - 1992. - Vol. 95, № 2-3. - P. 105–17.

67. Tabaei, S. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Polymorphisms and Risk of Coronary Artery Disease: Evidence From Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis / S. Tabaei, M. Omraninava, S. Mehranfar, M. Motallebnezhad, S.S. Tabaei // *Biochemical genetics*. United States. - 2022. - Vol. 60, № 5. - P. 1409–1445.

68. Miri, S. Association of ACE I/D and PAI-1 4G/5G polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes mellitus / S. Miri, M.H. Sheikhha, S.A. Dastgheib, S.A. Shaker, H. Neamatzadeh // *Journal of diabetes and metabolic disorders*. - 2021. - Vol. 20, № 2. - P. 1191–1197.

69. Kumar, S. Genotype Variations and Association between PAI-1 Promoter Region (4G/5G and -844G/A) and Susceptibility to Acute Myocardial Infarction and Chronic Stable Angina / S. Kumar, A.K. Verma, V. Sagar, R. Ranjan, R. Sharma, P. Tomar, D. Bhatt, Y. Goyal, M.A. Alsahli, A. Almatroudi, S.A. Almatroodi, A.H. Rahmani, F. Alrumaihi, K. Muzammil, K. Dev, R. Yadav, R. Saxena // *Cardiology research and practice*. - 2021. - Vol. 2021. - P. 5551031.

70. Janssens, S.P. Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase / S.P. Janssens, A. Shimouchi, T. Quertermous, D.B. Bloch, K.D. Bloch // *J Biol Chem*. - 1992. - Vol. 267 № 21. - P. 14519-22. Erratum in: *J Biol Chem*. - 1992 - Vol. 267 № 31. - P. 22694.

71. Jak, B. Case Report: Placental Maternal Vascular Malperfusion Affecting Late Fetal Development and Multiorgan Infection Caused by SARS-CoV-2 in Patient With PAI-1 4G/5G Polymorphism / B. Jak, G. Zanirati, F.V.F. Rodrigues, M. Grahl, F. Krimberg, G. Pinzetta, L. Borém, D. Savi, D.C. Machado, J.C. Da Costa, D.R. Marinowic // *Frontiers in medicine*. - 2021. - Vol. 8. - P. 624166.

72. Annunziata, A. The Angiotensin Converting Enzyme Deletion/Deletion Genotype Is a Risk Factor for Severe COVID-19: Implication and Utility for Patients Admitted to Emergency Department / A. Annunziata, A. Coppola, V. Di Spirito, R.

Cauteruccio, A. Marotta, P.D. Micco, G. Fiorentino // *Medicina* (Kaunas, Lithuania). - 2021. - Vol. 57, № 8.

73. Субботовская, А.И. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена в оценке риска развития тромбозов различной локализации (пилотное исследование) / А.И. Субботовская, Г.А. Цветовская, А.А. Слепухина, Г.И. Лифшиц // *Российский кардиологический журнал*. - 2015. - Том. 10, № 126. - С. 50–53.

74. Tsantes, A.E. The haemostatic profile in critically ill COVID-19 patients receiving therapeutic anticoagulant therapy: An observational study / A.E. Tsantes, F. Frantzeskaki, A.G. Tsantes, E. Rapti, M. Rizos, S.I. Kokoris, E. Paramythiotou, G. Katsadiotis, V. Karali, A. Flevari, E. Chrysanthopoulou, E. Maratou, E. Kyriakou, A. Gialeraki, S. Bonovas, G. Dimopoulos, I. Tsangaris, A. Armaganidis // *Medicine*. - 2020. - Vol. 99, № 47. - P. e23365.

75. Bauer, W. A Matter of Caution: Coagulation Parameters in COVID-19 Do Not Differ from Patients with Ruled-Out SARS-CoV-2 Infection in the Emergency Department / W. Bauer, N. Galtung, N. Neuwinger, L. Kaufner, E. Langer, R. Somasundaram, R. Tauber, K. Kappert // *TH open: companion journal to thrombosis and haemostasis*. - 2021. - Vol. 5, № 1. - P. e43–e55.

76. Guervilly, C. Dissemination of extreme levels of extracellular vesicles: tissue factor activity in patients with severe COVID-19 / C. Guervilly, A. Bonifay, S. Burtey, F. Sabatier, R. Cauchois, E. Abdili, L. Arnaud, G. Lano, L. Pietri, T. Robert, M. Velier, L. Papazian, J. Albanese, G. Kaplanski, F. Dignat-George, R. Lacroix // *Blood advances*. - 2021. - Vol. 5, № 3. - P. 628–634.

77. Wu, D. Dysregulation of Pulmonary Responses in Severe COVID-19 / D. Wu, X.O. Yang // *Viruses*. - 2021. - Vol. 13, № 6.

78. Jover, E. Beneficial Effects of Mineralocorticoid Receptor Pathway Blockade against Endothelial Inflammation Induced by SARS-CoV-2 Spike Protein / E. Jover, L. Matilla, M. Garaikoetxea, A. Fernández-Celis, P. Muntendam, F. Jaisser, P. Rossignol, N. López-Andrés // *Biomedicines*. - 2021. - Vol. 9, № 6.

79. Hardy, M. Prothrombotic hemostasis disturbances in patients with severe COVID-19: Individual daily data / M. Hardy, I. Michaux, S. Lessire, J. Douxfils, J.M. Dogné, M. Bareille, G. Horlait, P. Bulpa, C. Chapelle, S. Laporte, S. Testa, H. Jacqmin, T. Lecompte, A. Dive, F. Mullier // *Data in brief*. - 2020. - Vol. 33. - P. 106519.

80. Hardy, M. Prothrombotic disturbances of hemostasis of patients with severe COVID-19: A prospective longitudinal observational study / M. Hardy, I. Michaux, S. Lessire, J. Douxfils, J.M. Dogné, M. Bareille, G. Horlait, P. Bulpa, C. Chapelle, S. Laporte, S. Testa, H. Jacqmin, T. Lecompte, A. Dive, F. Mullier // *Thrombosis research*. - 2021. - Vol. 197. - P. 20–23.

81. Shibeko, A.M. Redistribution of tpa fluxes in the presence of pai-1 regulates spatial thrombolysis / A.M. Shibeko, B. Chopard, A.G. Hoekstra, M.A. Panteleev // *Biophysical Journal*. - 2020. - Vol. 119, № 3. - P. 638–651.

82. Pine, A.B. Circulating markers of angiogenesis and endotheliopathy in COVID-19 / A.B. Pine, M.L. Meizlish, G. Goshua, C.H. Chang, H. Zhang, J. Bishai, P. Bahel, A. Patel, R. Gbyli, J.M. Kwan, C.H. Won, C. Price, C.S. Dela Cruz, S. Halene, D. van Dijk, J. Hwa, A.I. Lee, H.J. Chun // *Pulmonary circulation*. - 2020. - Vol. 10, № 4.

83. Cugno, M. Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity / M. Cugno, P.L. Meroni, R. Gualtierotti, S. Griffini, E. Grovetti, A. Torri, P. Lonati, C. Grossi, M.O. Borghi, C. Novembrino, M. Boscolo, S.C. Uceda Renteria, L. Valenti, G. Lamorte, M. Manunta, D. Prati, A. Pesenti, F. Blasi, G. Costantino, A. Gori, A. Bandera, F. Tedesco, F. Peyvandi // *Journal of autoimmunity*. - 2021. - Vol. 116. - P. 102560.

84. Lopez-Castaneda, S. Inflammatory and Prothrombotic Biomarkers Associated With the Severity of COVID-19 Infection / S. Lopez-Castaneda, N. García-Larragoiti, A. Cano-Mendez, K. Blancas-Ayala, G. Damian-Vázquez, A.I. Perez-Medina, L.D. Chora-Hernández, C. Areal-Martínez, M.E. Viveros-Sandoval // *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. - 2021. - Vol. 27.

85. Fernández, S. Distinctive Biomarker Features in The Endotheliopathy of COVID-19 and Septic Syndromes / S. Fernández, A.B. Moreno-Castaño, M. Palomo, J.

Martinez-Sanchez, S. Torramadé-Moix, A. Téllez, H. Ventosa, F. Seguí, G. Escolar, E. Carreras, J.M. Nicolás, E. Richardson, D. García-Bernal, C. Carlo-Stella, J.M. Moraleda, P.G. Richardson, M. Díaz-Ricart, P. Castro // *Shock* (Augusta, Ga.). United States. - 2021. - Vol. 57, № 1. - P. 95–105.

86. Juneja, G.K. Biomarkers of coagulation, endothelial function, and fibrinolysis in critically ill patients with COVID-19: A single-center prospective longitudinal study / G.K. Juneja, M. Castelo, C.H. Yeh, S.E. Cerroni, B.E. Hansen, J.E. Chessum, J. Abraham, E. Cani, D.J. Dwivedi, D.D. Fraser, M. Slessarev, C. Martin, S. McGilvray, P.L. Gross, P.C. Liaw, J.I. Weitz, P.Y. Kim; COVID-BEACONS investigators // *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*. - 2021. - Vol. 19, № 6. - P. 1546–1557.

87. Henry, B.M. Circulating Levels of Tissue Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1 Are Independent Predictors of Coronavirus Disease 2019 Severity: A Prospective, Observational Study / B.M. Henry, I. Cheruiyot, J.L. Benoit, G. Lippi, Z. Prohászka, E.J. Favaloro, S.W. Benoit // *Seminars in thrombosis and hemostasis*. United States. - 2021. - Vol. 47, № 4. - P. 451–455.

88. Campbell. R.A. Comparison of the coagulopathies associated with COVID-19 and sepsis / R.A. Campbell, Y. Hisada, F. Denorme, S.P. Grover, E.G. Bouck, E.A. Middleton, A.S. Wolberg, M.T. Rondina, N. Mackman // *Research and practice in thrombosis and haemostasis*. - 2021. - Vol. 5, № 4. - P. e12525.

89. Francischetti, I.M.B. Upregulation of pulmonary tissue factor, loss of thrombomodulin and immunothrombosis in SARS-CoV-2 infection / I.M.B. Francischetti, K. Toomer, Y. Zhang, J. Jani, Z. Siddiqui, D.J. Brotman, J.E. Hooper, T.S. Kickler // *EClinicalMedicine*. - 2021. - Vol. 39. - P. 101069.

90. Marchetti, M. Endothelium Activation Markers in Severe Hospitalized COVID-19 Patients: Role in Mortality Risk Prediction / M. Marchetti, P. Gomez-Rosas, E. Sanga, S. Gamba, C. Verzeroli, L. Russo, F. Restuccia, F. Schieppati, E. Bonanomi, M. Rizzi, S. Fagioli, A. D'Alessio, L. Lorini, A. Falanga // *TH open: companion journal to thrombosis and haemostasis*. - 2021. - Vol. 5, № 3. - P. e253–e263.

91. Bertolin, A.J. Platelet Reactivity and Coagulation Markers in Patients with COVID-19 / A.J. Bertolin, T.F. Dalçóquio, R. Salsoso, R.H. de M Furtado, R. Kalil-Filho,

L.A. Hajjar, R.F. Siciliano, E.G. Kallás, L.M. Baracioli, F.G. Lima, R.R. Giraldez, C. Cavalheiro-Filho, A. Vieira, C.M.C. Strunz, R.P. Giugliano, U.S. Tantry, P.A. Gurbel, J.C. Nicolau // *Advances in therapy*. - 2021. - Vol. 38, № 7. - P. 3911–3923.

92. Martín-Rojas, R.M. A mild deficiency of ADAMTS13 is associated with severity in COVID-19: comparison of the coagulation profile in critically and noncritically ill patients / R.M. Martín-Rojas, M. Chasco-Ganuza, S. Casanova-Prieto, V.E. Delgado-Pinos, G. Pérez-Rus, P. Duque-González, M. Sancho, J.L. Díez-Martín, C. Pascual-Izquierdo // *Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis*. - 2021. - Vol. 32, № 7. - P. 458–467.

93. Andrianto. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis / Andrianto, M.J. Al-Farabi, R.A. Nugraha, B.A. Marsudi, Y. Azmi // *Microvascular research*. - 2021. - Vol. 138. - P. 104224.

94. Rubina, K. Novel prognostic determinants of COVID-19-related mortality: A pilot study on severely-ill patients in Russia / K. Rubina, A. Shmakova, A. Shabanov, Y. Andreev, N. Borovkova, V. Kulabukhov, A. Evseev, K. Popugaev, S. Petrikov, E. Semina // *PLoS One*. - 2022. - Vol. 17, № 2. - P. e0264072.

95. Collen, D. Molecular mechanisms of fibrinolysis and their application to fibrin-specific thrombolytic therapy / D. Collen // *J Cell Biochem*. - 1987. - Vol. 33, № 2. - P. 77–86.

96. Айсина, Р.Б. Структура и функции системы плазминоген/плазмин / Р.Б. Айсина, Л.И. Мухаметова // *Биоорганическая химия*. - 2014. - Том. 40, № 6. - С. 642–657.

97. Zhang, L. Plasminogen has a broad extrahepatic distribution / L. Zhang, D. Seiffert, B.J. Fowler, G.R. Jenkins, T.C. Thinnes, D.J. Loskutoff, R.J. Parmer, L.A. Miles // *Thromb Haemost*. - 2002. - Vol. 87, № 3. - P. 493–501.

98. Ji, H.L. Elevated Plasmin(ogen) as a Common Risk Factor for COVID-19 Susceptibility / H.L. Ji, R. Zhao, S. Matalon, M.A. Matthay // *Physiol Rev*. - 2020. - Vol. 100, № 3. - P. 1065–75.

99. Keskinidou, C. Endothelial, Immunothrombotic, and Inflammatory Biomarkers in the Risk of Mortality in Critically Ill COVID-19 Patients: The Role of Dexamethasone / C. Keskinidou, A.G. Vassiliou, A. Zacharis, E. Jahaj, P. Gallos, I. Dimopoulou, S.E. Orfanos, A. Kotanidou // *Diagnostics* (Basel, Switzerland). - 2021. - Vol. 11, № 7.

100. Henry, B.M. Circulating Plasminogen Concentration at Admission in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / B.M. Henry, S.W. Benoit, J. Hoehn, G. Lippi, E.J. Favaloro, J.L. Benoit // *Seminars in thrombosis and hemostasis*. - 2020. - Vol. 46, № 7. - P. 859–862.

101. Della-Morte, D. Low level of plasminogen increases risk for mortality in COVID-19 patients / D. Della-Morte, F. Pacifici, C. Ricordi, R. Massoud, V. Rovella, S. Proietti, M. Iozzo, D. Lauro, S. Bernardini, S. Bonassi, N. Di Daniele // *Cell death & disease*. - 2021. - Vol. 12, № 8. - P. 773.

102. Wu, Y. Plasminogen improves lung lesions and hypoxemia in patients with COVID-19 / Y. Wu, T. Wang, C. Guo, D. Zhang, X. Ge, Z. Huang, X. Zhou, Y. Li, Q. Peng, J. Li // *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*. - 2020. - Vol. 113, № 8. - P. 539–545.

103. Hoffmann, M. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Pöhlmann // *Molecular cell*. - 2020. - Vol. 78, № 4. - P. 779–784.e5.

104. Medcalf, R.L. Fibrinolysis and COVID-19: A plasmin paradox / R.L. Medcalf, C.B. Keragala, P.S. Myles // *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. - 2020. - Vol. 18, № 9. - P. 2118–2122.

105. Umemura, Y. Hematological Phenotype of COVID-19-Induced Coagulopathy: Far from Typical Sepsis-Induced Coagulopathy / Y. Umemura, K. Yamakawa, T. Kiguchi, T. Nishida, M. Kawada, S. Fujimi // *Journal of clinical medicine*. - 2020. - Vol. 9, № 9.

106. Jin, X. The values of coagulation function in COVID-19 patients / X. Jin, Y. Duan, T. Bao, J. Gu, Y. Chen, Y. Li, S. Mao, Y. Chen, W. Xie // *PloS one*. - 2020. - Vol. 15, № 10. - P. e0241329.

107. von Meijenfeldt, F.A. Prothrombotic changes in patients with COVID-19 are associated with disease severity and mortality / F.A. von Meijenfeldt, S Havervall., J. Adelmeijer, A. Lundström, A.S. Rudberg, M. Magnusson, N. Mackman, C. Thalin, T. Lisman // *Research and practice in thrombosis and haemostasis*. - 2021. - Vol. 5, № 1. - P. 132–141.

108. Bouck, E.G. COVID-19 and Sepsis Are Associated With Different Abnormalities in Plasma Procoagulant and Fibrinolytic Activity / E.G. Bouck, F. Denorme, L.A. Holle, E.A. Middleton, A.M. Blair, B. de Laat, J.D. Schiffman, C.C. Yost, M.T. Rondina, A.S. Wolberg, R.A. Campbell // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. - 2021. - Vol. 41, № 1. - P. 401–414.

109. Nougier, C. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-COV2 associated thrombosis / C. Nougier, R. Benoit, M. Simon, H. Desmurs-Clavel, G. Marcotte, L. Argaud, J. S. David, A. Bonnet, C. Negrier, Y. Dargaud // *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. - 2020. - Vol. 18, № 9. - P. 2215–2219.

110. Щербак, С.Г. Генетический полиморфизм системы гемостаза (обзор литературы) / С.Г. Щербак, Т.А. Камилова, Д.Г. Лисовец, А.М. Сарана, Е.А. Юркина, А.К. Юркин, С.В. Макаренко, Н.А. Кленкова, А.Ю. Анисенкова, А.А. Сахаровская, О.С. Глотов, А.С Глотов, А.Г. Максимов // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. - 2015. - Том. 7, № 4. - С. 66–75.

111. Guimarães, L.M.F. Implications of SARS-Cov-2 infection on eNOS and iNOS activity: Consequences for the respiratory and vascular systems / L.M.F. Guimarães, C.V.T. Rossini, C. Lameu // *Nitric oxide: biology and chemistry*. - 2021. - Vol. 111–112. - P. 64–71.

112. Hon, W.M. Nitric oxide in liver diseases / W.M. Hon, W.H. Lee, H.E. Khoo // *Annals of the New York Academy of sciences*. - 2002. – Vol. 962. – P. 278-295.

113. Best, L.G. Genetic variants, endothelial function, and risk of preeclampsia among american indians / L.G. Best, M. Nadeau, S. Bercier // *Hypertens Pregnancy*. - 2012. - Vol. 31, № 1. - P. 1–10.

114. Grøntved, A. NOS3 variants, physical activity, and blood pressure in the European Youth Heart Study / A. Grøntved, L.B. Andersen, P.W. Franks, B. Verhage, N.J. Wareham, U. Ekelund, R.J. Loos, S. Brage // *Am J Hypertens.* - 2011. - Vol. 24, № 4. - P. 444–50.
115. Möllsten, A. The endothelial nitric oxide synthase gene and risk of diabetic nephropathy and development of cardiovascular disease in type 1 diabetes / A. Möllsten, M. Lajer, A. Jorsal, L. Tarnow // *Mol Genet Metab.* - 2009. - Vol. 97, № 1. - P.80–4.
116. Rai, H. Lack of association between Glu298Asp polymorphism and coronary artery disease in North Indians / H. Rai, J. Fitt, A.K. Sharma, N. Sinha, S. Kumar, C.M. Pandey, S. Agrawal, S. Mastana // *Mol Biol Rep.* - 2011. - Vol. 39, № 5. - P. 5995–6000.
117. Liu, S. Phenethyl isothiocyanate as an anti-nutritional factor attenuates deoxynivalenol-induced IPEC-J2 cell injury through inhibiting ROS-mediated autophagy / S. Liu, X. Mao, L. Ge, L. Hou, G. Le, F. Gan, L. Wen, K. Huang // *Animal nutrition (Zhongguo xu mu shou yi xue hui).* - 2022. - Vol. 8, № 1. - P. 300–309.
118. Lei, Y. SARS-CoV-2 Spike Protein Impairs Endothelial Function via Downregulation of ACE 2 / Y. Lei, J. Zhang, C.R. Schiavon, M. He, L. Chen, H. Shen, Y. Zhang, Q. Yin, Y. Cho, L. Andrade, G.S. Shadel, M. Hepokoski, T. Lei, H. Wang, J. Zhang, J.X. Yuan, A. Malhotra, U. Manor, S. Wang, Z.Y. Yuan, J.Y. Shyy // *Circulation research.* - 2021. - Vol. 128, № 9. - P. 1323–1326.
119. Kukreja, R.C. eNOS phosphorylation: a pivotal molecular switch in vasodilation and cardioprotection? / R.C. Kukreja, L. Xi // *Journal of molecular and cellular cardiology.* 2006/12/18. - 2007. - Vol. 42, № 2. - P. 280–282.
120. Koh, S.S. Effect of Ergothioneine on 7-Ketocholesterol-Induced Endothelial Injury / S.S. Koh, S.C. Ooi, N.M. Lui, C. Qiong, L.T. Ho, I.K. Cheah, B. Halliwell, D.R. Herr, W.Y. Ong // *Neuromolecular medicine.* - 2021. - Vol. 23, № 1. - P. 184–198.
121. Vassiliou, A.G. Soluble Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) Is Upregulated and Soluble Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Is Downregulated in COVID-19-induced Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) / A.G. Vassiliou, A. Zacharis, C. Keskinidou, E. Jahaj, M. Pratikaki, P. Gallos, I. Dimopoulou, A. Kotanidou, S.E. Orfanos // *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland).* - 2021. - Vol. 14, № 7.

122. Fioretto, J.R. Acute and sustained effects of early administration of inhaled nitric oxide to children with acute respiratory distress syndrome / J.R. Fioretto, M.A. de Moraes, R.C. Bonatto, S.M. Ricchetti, M.F. Carpi // *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. United States. - 2004. - Vol. 5, № 5. - P. 469–474.

123. Cuthbertson, B.H. Effect of inhaled nitric oxide on key mediators of the inflammatory response in patients with acute lung injury / B.H. Cuthbertson, H.F. Galley, N.R. Webster // *Critical care medicine*. United States. - 2000. - Vol. 28, № 6. - P. 1736–1741.

124. Herranz, L. Inhaled Nitric Oxide in Patients with Severe COVID-19 Infection at Intensive Care Unit - A Cross Sectional Study / L. Herranz, J.G. da Silveira, L.F.L. Trocado, A.L. Alvaraes, J. Fittipaldi // *Journal of critical care medicine (Universitatea de Medicina si Farmacie din Targu-Mures)*. - 2021. - Vol. 7, № 4. - P. 318–319.

125. Kresch, E. COVID-19 Endothelial Dysfunction Can Cause Erectile Dysfunction: Histopathological, Immunohistochemical, and Ultrastructural Study of the Human Penis / E. Kresch, J. Achua, R. Saltzman, K. Khodamoradi, V Arora, E. Ibrahim, O.N. Kryvenko, V.W. Almeida, F. Firdaus, J.M. Hare, R. Ramasamy // *The world journal of men's health*. - 2021. - Vol. 39, № 3. - P. 466–469.

126. Aydemir, M.N. Computationally predicted SARS-COV-2 encoded microRNAs target NFkB, JAK/STAT and TGFB signaling pathways / M.N. Aydemir, H.B. Aydemir, E.M. Korkmaz, M. Budak, N. Cekin, E. Pinarbasi // *Gene reports*. - 2021. - Vol. 22. - P. 101012.

127. Xu, X. Association of endothelial nitric oxide synthase intron 4a/b gene polymorphisms and hypertension: a systematic review and meta-analysis / X. Xu, W. Ye, H. Chen, M. Liu, W. Jiang, Z. Fang // *The Journal of international medical research*. - 2021. - Vol. 49, № 11.

128. Severino, P. Potential Role of eNOS Genetic Variants in Ischemic Heart Disease Susceptibility and Clinical Presentation / P. Severino, A. D'Amato, S. Prosperi, M. Magnocavallo, M.V. Mariani, L. Netti, L.I. Birtolo, P. De Orchi, C. Chimenti, V.

Maestrini, F. Miraldi, C. Lavalle, V. Caputo, R. Palmirota, M. Mancone, F. Fedele // *Journal of cardiovascular development and disease*. - 2021. - Vol. 8, № 9.

129. Hsiao, P.-J. Association between nitric oxide synthase T-786C genetic polymorphism and chronic kidney disease: Meta-analysis incorporating trial sequential analysis / P.-J. Hsiao, C.C. Chiu, D.J. Tsai, P.S. Ko, Y.K. Chen, H. Cheng, W. Su, K.C. Lu, S.L. Su // *PloS one*. - 2021. - Vol. 16, № 10. - P. e0258789.

130. Gouliopoulos, N. The association of T786C and G894T polymorphisms of eNOS gene with diabetic retinopathy in Greece / N. Gouliopoulos, G. Siasos, D. Oikonomou, E. Oikonomou, T. Konsola, C. Kollia, D. Athanasiou, S. Dimitropoulos, A. Rouvas, E. Kassi, D. Tousoulis, M.M. Moschos // *Eur J Ophthalmol*. - 2022. - Vol. 32, № 5. - P. 2582–2588.

131. Щёктова, А.П. Эндотелиальная дисфункция и полиморфизм гена эндотелиальной синтазы азота (NOS3) при хронических заболеваниях печени / А.П. Щёктова, А.В. Кривцов, И.А. Булатова, Е.Б. Загородских // *Современные проблемы науки и образования*. - 2012. № 2. - Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=6047>.

132. Joshi, M.S. Effects of human endothelial gene polymorphisms on cellular responses to hyperglycaemia: role of NOS3 (Glu298Asp) and ACE (I/D) polymorphisms / M.S. Joshi // *Diab. Vasc. Res*. - 2011. - Vol. 8, № 4. - P. 276–283.

133. Li, J. Association of eNOS gene polymorphisms with essential hypertension in the Han population in southwestern China / J. Li, Y. Cun, W.R. Tang, Y. Wang, S.N. Li, H.R. Ouyang, Y.R. Wu, H.J. Yu, C.J. Xiao // *Genet Mol Res*. - 2011. - Vol. 10, № 3. - P. 2202–12.

134. Jia, Z. Association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis / Z. Jia, X. Zhang, S. Kang, Y. Wu // *Endocr*. - 2013. - Vol. 60, № 7. - P. 893–901.

135. Shi, J. Association between eNOS rs1799983 polymorphism and hypertension: a meta-analysis involving 14,185 cases and 13,407 controls / J. Shi, S. Liu, Y. Guo, S. Liu, J. Xu, L. Pan, Y. Hu, Y. Liu, Y. Cheng // *BMC cardiovascular disorders*. - 2021. - Vol. 21, № 1. - P. 385.

136. Farbood, Z. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms (-922A > G, -786 T > C, Intron 4 b/a VNTR and 894 G > T) and Essential Hypertension: An Association Study with Haplotypes Analysis / Z. Farbood, A. Sabeti Aghabozorgi, A. Nejatizadeh, H. Farshidi, L. Shams, A. Bahreyni, E. Mansouri Babamansouri, M. Shekari // *Biochemical genetics*. United States. - 2020. - Vol. 58, № 4. - P. 518–532.

137. Ryk, C. Polymorphisms in nitric-oxide synthase 3 may influence the risk of urinary-bladder cancer / C. Ryk, N.P. Wiklund, T. Nyberg, P.J. de Verdier // *Nitric Oxide*. - 2011. - Vol. 25, № 3. - P. 338–343.

138. Wu, J.H. Association of endothelia nitric oxide synthase gene rs 1799983 polymorphism with susceptibility to prostate cancer: a meta-analysis / J.H. Wu, K. Yang, H.S. Ma, Y. Xu // *Tumour Biol*. - 2014. - Vol. 35, № 7. - P. 7057–7062.

139. Pehlivan, S. Investigation of MBL2 and NOS3 functional gene variants in suspected COVID-19 PCR (-) patients / S. Pehlivan, M. Köse, S. Mese, I. Serin, N. Senkal, Y. Oyac1, A. Medetalibeyoglu, M. Pehlivan, G.Y. Sayın, U. Isoglu-Alkac, T. Tukek // *Pathogens and global health*. - 2021. - P. 1–7.

140. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // Минздрав России. - 2020. - Версия 7 (03.06.2020). - Режим доступа: http://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/MR_COVID-19_v7.pdf

141. Jarahzadeh, M.H. Association of PAI-1 4G/5G and ACE I/D Polymorphisms with Susceptibility to Pediatric Sepsis: Evidence from a Meta-Analysis / M.H. Jarahzadeh, M. Jafari, N. Seifi-Shalamzari, M. Jafari, N. Seifi-Shalamzari, F. Ferdosian, R. Bahrami, A. Raei-Ezzabadi, Z. Nafei, A. Shajari, S.R. Mirjalili, H. Neamatzadeh // *Fetal and Pediatric Pathology*. - 2022. - Vol. 41. - P. 242–258.

142. Velissaris, D. Prognostic Role of Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor at the Emergency Department: A Position Paper by the Hellenic Sepsis Study Group / D. Velissaris, G. Dimopoulos, J. Parissis, Z. Alexiou, N. Antonakos, D. Babalis, S. Gerakari, V. Kaldis, P. Koutoukas, M. Lada, K. Leventogiannis, I. Pantazopoulos, A.

Papadopoulos, E. Polyzogopoulou, C. Gogos, A. Armaganidis, E.J. Giamarellos-Bourboulis // *Infectious Diseases and Therapy*. - 2020. - Vol. 9, № 3. - P. 407–416.

143. Santeri, S. suPAR cut-offs for stratification of low, medium, and high-risk acute medical patients in the emergency department. / S. Santeri, A.A. Peter, N. Kristiina, E.O. Jesper, H. Harri // *BMC Emergency Medicine*. - 2021. - Vol. 21, № 1. - P. 149.

144. Teimury, A. Major coagulation disorders and parameters in COVID-19 patients / A. Teimury, M.T. Khameneh, E.M. Khaledi // *European Journal of Medical Research*. - 2022. - Vol. 27. - P. 25.

145. Qin, C. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China / C. Qin, C. Qin, L. Zhou, Z. Hu, S. Zhang, S. Yang, Y. Tao, C. Xie, K. Ma, K. Shang, W. Wang, D.S. Tian // *Clinical Infectious Diseases*. - 2020. - Vol. 71, № 15. - P. 762–768.

146. Wan, S. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP) / S. Wan, Q. Yi, S. Fan, J. Lv, X. Zhang, L. Guo, C. Lang, Q. Xiao, K. Xiao, Z. Yi, M. Qiang, J. Xiang, B. Zhang, Y. Chen // *MedRxiv [Preprint]*. - 2020. - Режим доступа: <https://doi.org/10.1101/2020.02.10.20021832>.

147. Henry, B.M. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis / B.M. Henry, M.H.S. de Oliveira, S. Benoit, M. Plebani, G. Lippi // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. - 2020. - Vol. 58, № 7. - P. 1021–1028.

148. Xia, W. Clinical and CT features in pediatric patients with COVID-19 infection: different points from adults / W. Xia, J. Shao, Y. Guo, X. Peng, Z. Li, D. Hu // *Pediatric Pulmonology*. - 2020. - Vol. 55. - P. 1169–1174.

149. Chen, N. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen, M. Zhou, X. Dong, J. Qu, F. Gong, Y. Han, Y. Qiu, J. Wang, Y. Liu, Y. Wei, J. Xia, T. Yu, X. Zhang, L. Zhang // *Lancet*. - 2020. - Vol. 395, № 10223. - P. 507–513.

150. Yang, X. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study / X. Yang, Y. Yu, J. Xu, H. Shu, J. Xia, H. Liu, Y. Wu, L. Zhang, Z. Yu, M. Fang, T. Yu, Y. Wang, S. Pan, X. Zou, S. Yuan, Y. Shang // *The Lancet Respiratory Medicine*. - 2020. - Vol. 8, № 5. - P. 475–481.

151. Ponti, G. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression / G. Ponti, M. Maccaferri, C. Ruini, A. Tomasi, T. Ozben // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. - 2020. - Vol. 57, № 6. - P. 389–399.

152. Lebedeva, A. Comprehensive Cytokine Profiling of Patients with COVID-19 Receiving Tocilizumab Therapy / A. Lebedeva, I. Molodtsov, A. Anisimova, A. Berestovskaya, O. Dukhin, A. Elizarova, W. Fitzgerald, D. Fomina, K. Glebova, O. Ivanova, A. Kalinskaya, A. Lebedeva, M. Lysenko, E. Maryukhnich, E. Misyurina, D. Protsenko, A. Rosin, O. Sapozhnikova, D. Sokorev, A. Shpektor, D. Vorobyeva, E. Vasilieva, L. Margolis // *Int. J. Mol. Sci.* - 2022. - № 23. - P. 7937. - Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms23147937>.

153. Шатохина, Е.А. Возможность применения ингибиторов ИЛ-17 у пациентов с COVID-19: собственный опыт и обзор литературы / Е.А. Шатохина, А.С. Полонская, Е.А. Мершина, Е.М. Серединина, А.Г. Плисюк, О.А. Георгинова, Т.Н. Краснова, Е.П. Павликова, Я.А. Орлова, В.Е. Сеницын, Л.С. Круглова, А.А. Камалов // *Иммунология*. - 2021. - Том. 42, №3. - С. 243–253. - Режим доступа: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-3-243-253>.

154. Chocron, R. Critical COVID-19 France investigators. D-dimer at hospital admission for COVID-19 are associated with in-hospital mortality, independent of venous thromboembolism: Insights from a French multicenter cohort study / R. Chocron, B. Duceau, N. Gendron, N. Ezzouhairi, L. Khider, V. Trimaille, G. Goudot, O. Weizman., J.M. Alsac, T. Pommier, O. Bory, J. Cellier, A. Philippe, L. Geneste, I. Ben Abdallah, V. Panagides, S. El Batti, W. Marsou W., P. Juvin, A. Deney, E. Messas, S. Attou, B. Planquette, D. Mika, P. Gaussem, V. Fauvel, J.L. Diehl, T. Pezel, T. Mirault, W. Sutter, O. Sanchez, G. Bonnet, A. Cohen, D.M. Smadja // *Archives of Cardiovascular Diseases*. - 2021. - Vol. 114, № 5. - P. 381–393.

155. Mehrdad, R. Hemostatic System (Fibrinogen Level, D-Dimer, and FDP) in Severe and Non-Severe Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis / R. Mehrdad, K. Zahra, H. Mansouritorghabeh // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. - 2021. - Vol. 27. - P. 10760296211010973.
156. Zhu, J. Coagulation dysfunction is associated with severity of COVID-19: A meta-analysis / J. Zhu, J. Pang, P. Ji, Z. Zhong, H. Li, B. Li, J. Zhang, J. Lu // *Journal of Medical Virology*. - 2021. - Vol. 93, № 2. - P. 962–972.
157. Di Minno, M.N.D. Hemostatic Changes in Patients with COVID-19: A Meta-Analysis with Meta-Regressions / M.N.D. Di Minno, I. Calcaterra, R. Lupoli, A. Storino, G.A. Spedicato, M. Maniscalco, A. Di Minno, P. Ambrosino // *Journal of Clinical Medicine*. - 2020. - Vol. 9, № 7. - P. 2244.
158. Len, P. Meta-Analysis and Systematic Review of Coagulation Disbalances in COVID-19: 41 Studies and 17,601 Patients / P. Len, G. Iskakova, Z. Sautbayeva, A. Kussanova, A.T. Tauekelova, M.M. Sugralimova, A.S. Dautbaeva, M.M. Abdieva, E.D. Ponomarev, A. Tikhonov, M.S. Bekbossynova, N.S. Barteneva // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. - 2022. - Vol. 9. - P. 794092.
159. Tang, N. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang, Z. Sun // *Journal of Thrombosis and Haemostasi*. - 2020. - Vol. 18, № 4. - P. 844–847.
160. Lin, J. COVID-19 and coagulation dysfunction in adults: A systematic review and meta-analysis / J. Lin, H. Yan, H. Chen, C. He, C. Lin, H. He, S. Zhang, S. Shi, K. Lin // *Journal of Medical Virology*. - 2021. - Vol. 93, № 2. - P. 934–944.
161. Tan, L.Y. Hyperinflammatory Immune Response and COVID-19: A Double Edged Swor / L.Y. Tan, T.V. Komarasamy, V. RMT Balasubramaniam // *Frontiers in Immunology*. - 2021. - Vol. 12. - P. 742941.
162. Sproston, N.R. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection / N.R. Sproston, J.J. Ashworth // *Frontiers in immunology*. - 2018. - Vol. 17, № 9. - P. 754.
163. Mareev, V.Y. Steroid pulse -therapy in patients with coronavirus pneumonia (covid-19), systemic inflammation and risk of venous thrombosis and thromboembolism

(wayfarer study) / V.Y. Mareev, Y.A. Orlova, E.P. Pavlikova, S.T. Matskeplishvili, T.N. Krasnova, P.S. Malahov, L.M. Samokhodskaya, E.A. Mershina, V.E. Sinitsyn, Y.V. Mareev, A.L. Kalinkin, Y.L. Begrambekova, A.A. Kamalov // *Kardiologiya*. - 2020. - Vol. 60, № 6. - P. 15–29.

164. Kazemi, E. The laboratory findings and different COVID-19 severities: a systematic review and meta-analysis / E. Kazemi, R. Soldoozi Nejat, F. Ashkan, H. Sheibani // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. - 2021. - Vol. 20, № 1. - P. 17.

165. Bhowmik, K.K. A systematic review and meta-analysis of abnormalities in hematological and biochemical markers among Bangladeshi COVID-19 cases / K.K. Bhowmik, M.A. Berek, M.A. Aziz, M.S. Islam // *Health Science Reports*. - 2022. - Vol. 5, № 4. - P. e728.

166. Sahu, B.R. C-reactive protein: a promising biomarker for poor prognosis in COVID-19 infection / B.R. Sahu, R.K. Kampa, A. Padhi, A.K. Panda // *Clinica Chimica Acta*. - 2020. - Vol. 509. - P. 91–94.

167. Yang, A.P. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients / A.P. Yang, J.P. Liu, W.Q. Tao, H.M. Li // *International Immunopharmacology*. - 2020. - Vol 84. - P. 106504.

168. Smilowitz, N.R. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19 / N.R. Smilowitz, D. Kunichoff, M. Garshick, B. Shah, M. Pillinger, J.S. Hochman, J.S. Berger // *European Heart Journal*. - 2021. - Vol. 42, №. 23 - P. 2270–2279.

169. Wang, L. C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19 / L. Wang // *Medecine et Maladies Infectieuses*. - 2020. - Vol. 50, №. 4 - P. 332–334.

170. Tan, C. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early / C. Tan, Y. Huang, F. Shi, K. Tan, Q Ma., Y. Chen, X. Jiang, X. Li // *Journal of Medical Virology*. - 2020. - Vol. 92, №. 7 - P. 856–862.

171. Barinka, C. Structural basis of interaction between urokinase-type plasminogen activator and its receptor / C. Barinka, G. Parry, J. Callahan, D.E. Shaw, A. Kuo, K. Bdeir, D.B. Cines, A. Mazar, J. Lubkowski // *Journal of molecular biology*. - 2006. - Vol. 363, № 2. - P. 482–495.

172. Blasi, F. uPAR: a versatile signalling orchestrator / F. Blasi, P. Carmeliet // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. - 2002. - Vol. 3, № 12. - P. 932–943.

173. Jaiswal, R.K. Diversity and functional evolution of the plasminogen activator system / R.K. Jaiswal, A.K. Varshney, P.K. Yadava // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. - 2018. - Vol. 98. - P. 886–898.

174. Schuliga, M. The fibrogenic actions of lung fibroblast-derived urokinase: a potential drug target in IPF / M. Schuliga, J. Jaffar, T. Harris, D.A. Knight, G. Westall, A.G. Stewart // *Scientific Reports*. - 2017. - Vol. 7. - P. 41770.

175. Marudamuthu, A.S. Role of the Urokinase-Fibrinolytic System in Epithelial–Mesenchymal Transition during Lung Injury / A.S. Marudamuthu, Y.P. Bhandary, S.K. Shetty, J. Fu, V. Sathish, Y. Prakash, S. Shetty // *The American Journal of Pathology*. - 2015. - Vol. 185, № 1. - P. 55–68.

176. Xiao, W. Sputum cathelicidin, urokinase plasminogen activation system components, and cytokines discriminate cystic fibrosis, COPD, and asthma inflammation / W. Xiao, Y.P. Hsu, A. Ishizaka, T. Kirikae, R.B. Moss // *Chest*. - 2005. - Vol. 128, № 4. - P. 2316–2326.

177. Chen, J. Transcriptome Sequencing Identifies PLAUR as an Important Player in Patients With Dermatomyositis-Associated Interstitial Lung Disease / J. Chen, R. Zhang, M. Xie, C. Luan, X. Li // *Frontiers in Genetics*. - 2021. - Vol. 12. - P. 784215.

178. Tucker, T.A. The Contribution of the Urokinase Plasminogen Activator and the Urokinase Receptor to Pleural and Parenchymal Lung Injury and Repair: A Narrative Review / T.A. Tucker, S. Idell // *The International Journal of Molecular Sciences*. - 2021. - Vol. 22, № 3. - P. 1437.

179. Severe Covid-19 GWAS Group. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure // *The New England Journal of Medicine*. - 2020. - Vol. 383, № 16. - P. 1522-1534.

180. Wang, F. Initial whole-genome sequencing and analysis of the host genetic contribution to COVID-19 severity and susceptibility / F. Wang, S. Huang, R. Gao, Y. Zhou, C. Lai, Z. Li, W. Xian, X. Qian, Z. Li, Y. Huang, Q. Tang, P. Liu, R. Chen, R. Liu,

X. Li, X. Tong, X. Zhou, Y. Bai, G. Duan, T. Zhang, X. Xu, J. Wang, H. Yang, S. Liu, Q. He, X. Jin, L. Liu // *Cell Discovery*. - 2020. - Vol. 6, № 1. - P. 83.

181. Velavan, T.P. Host genetic factors determining COVID-19 susceptibility and severity / T.P. Velavan, S.R. Pallerla, J. Rüter, Y. Augustin, P.G. Kremsner, S. Krishna, C.G. Meyer // *EBioMedicine*. - 2021. - Vol. 72. - P. 103629.

182. Pairo-Castineira, E. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19 / E. Pairo-Castineira, S. Clohisey, L. Klaric, A.D. Bretherick, K. Rawlik, D. Pasko, S. Walker, N. Parkinson, M.H. Fourman, C.D. Russell, J. Furniss, A. Richmond, E. Gountouna, N. Wrobel, D. Harrison, B. Wang, Y. Wu, A. Meynert, F. Griffiths, W. Oosthuyzen, A. Kousathanas, L. Moutsianas, Z. Yang, R. Zhai, C. Zheng, G. Grimes, R. Beale, J. Millar, B. Shih, S. Keating, M. Zechner, C. Haley, D.J. Porteous, C. Hayward, J. Yang, J. Knight, C. Summers, M. Shankar-Hari, P. Klenerman, L. Turtle, A. Ho, S.C. Moore, C. Hinds, P. Horby, A. Nichol, D. Maslove, L. Ling, D. McAuley, H. Montgomery, T. Walsh, A.C. Pereira, A. Renieri; GenOMICC Investigators; ISARIC4C Investigators; COVID-19 Human Genetics Initiative; 23andMe Investigators; BRACOVIC Investigators; GenCOVID Investigators, X. Shen, C.P. Ponting, A. Fawkes, A. Tenesa, M. Caulfield, R. Scott, K. Rowan, L. Murphy, P.J.M. Openshaw, M.G. Semple, A. Law, V. Vitart, J.F. Wilson, J.K. Baillie // *Nature*. - 2021. - Vol. 591, № 7848. - P. 92–98.

183. Barton, S.J. PLAUR polymorphisms are associated with asthma, PLAUR levels, and lung function decline / S.J. Barton, G.H., Koppelman, J.M. Vonk, C.A. Browning, I.M. Nolte, C.E. Stewart, S. Bainbridge, S. Mutch, M.J. Rose-Zerilli, D.S. Postma, N. Maniatis, A.P. Henry, I.P. Hall, S.T. Holgate, P. Tighe, J.W. Holloway, I. Sayers // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. - 2009. - Vol. 123, № 3. - P. 1391–1400.

184. Ierodiakonou, D. Urokinase plasminogen activator receptor polymorphisms and airway remodelling in asthma / D. Ierodiakonou, G.H. Koppelman, J.M. Vonk, C.A. Browning, I.M. Nolte, C.E. Stewart, S. Bainbridge, S. Mutch, M.J. Rose-Zerilli, D.S. Postma, N. Maniatis, A.P. Henry, I.P. Hall, S.T. Holgate, P. Tighe, J.W. Holloway, I. Sayers // *European Respiratory Journal*. - 2016. - Vol. 47, № 5. - P. 1568–1571.

185. Rasmussen, L.J.H. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) as a Biomarker of Systemic Chronic Inflammation / L.J.H. Rasmussen, J.E.V. Petersen, J. Eugen-Olsen // *Frontiers in immunology*. - 2021. - Vol. 2, № 12. - P. 780641.

186. Лебедев, Н.В. Биомаркеры и индикаторы воспаления в диагностике и прогнозе абдоминального сепсиса / Н.В. Лебедев, А.Е. Климов, О.Н. Черепанова, А.А. Бархударов // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. - 2018. - № 10. - С. 92–98.

187. Napolitano, F. Soluble Urokinase Receptor as a Promising Marker for Early Prediction of Outcome in COVID-19 Hospitalized Patients / F. Napolitano, G. Di Spigna, M. Vargas, C. Iacovazzo, B. Pinchera, D. Spalletti Cernia, M. Ricciardone, B. Covelli, G. Servillo, I. Gentile, L. Postiglione, N. Montuori // *Journal of Clinical Medicine*. - 2021. - Vol. 10, № 21. - P. 4914.

188. Kyriazopoulou, E. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial / E. Kyriazopoulou, G. Poulakou, H. Milionis, S. Metallidis, G. Adamis, K. Tsiakos, A. Fragkou, A. Rapti, C. Damoulari, M. Fantoni, I. Kalomenidis, G. Chrysos, A. Angheben, I. Kainis, Z. Alexiou, F. Castelli, F.S. Serino, M. Tsilika, P. Bakakos, E. Nicastrì, V. Tzavara, E. Kostis, L. Dagna, P. Koufargyris, K. Dimakou, S. Savvanis, G. Tzatzagou, M. Chini, G. Cavalli, M. Bassetti, K. Katrini, V. Kotsis, G. Tsoukalas, C. Selmi, I. Bliziotis, M. Samarkos, M. Doumas, S. Ktena, A. Masgala, I. Papanikolaou, M. Kosmidou, D.M. Myrodi, A. Argyraki, C.S. Cardellino, K. Koliakou, E.I. Katsigianni, V. Rapti, E. Giannitsioti, A. Cingolani, S. Micha, K. Akinosoglou, O. Liatsis-Douvitsas, S. Symbardi, N. Gatselis, M. Mouktaroudi, G. Ippolito, E. Florou, A. Kotsaki, M.G. Netea, J. Eugen-Olsen, M. Kyprianou, P. Panagopoulos, G.N. Dalekos, E.J. Giamarellos-Bourboulis // *Nature Medicine*. - 2021. - Vol. 27, № 10. - P. 1752–1760.

189. Emilsson, V. Co-regulatory networks of human serum proteins link genetics to disease / V. Emilsson, M. Ilkov, J.R. Lamb, N. Finkel, E.F. Gudmundsson, R. Pitts, H. Hoover, V. Gudmundsdottir, S.R. Horman, T. Aspelund, L. Shu, V. Trifonov, S. Sigurdsson, A. Manolescu, J. Zhu, Ö. Olafsson, J. Jakobsdottir, S.A. Lesley, J. To, J. Zhang, T.B. Harris, L.J. Launer, B. Zhang, G. Eiriksdottir, X. Yang, A.P. Orth, L.L. Jennings, V. Gudnason // *Science*. - 2018. - Vol. 361, № 6404. - P. 769–773.

190. Olson, N.C. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor: Genetic Variation and Cardiovascular Disease Risk in Black Adults / N.C. Olson, L.M. Raffield, A.H. Moxley, T.W. Miller-Fleming, P.L. Auer, N. Franceschini, D. Ngo, T.A. Thornton, E.M. Lange, Y. Li, D.A. Nickerson, N.A. Zakai, R.E. Gerszten, N.J. Cox, A. Correa, K.L. Mohlke, A.P. Reiner // *Circulation: Genomic and Precision Medicine*. - 2021. - Vol. 14, №.6 - P. e003421.

191. Croteau-Chonka, D.C. Population-specific coding variant underlies genome-wide association with adiponectin level / D.C. Croteau-Chonka, Y. Wu, Y. Li, M.P. Fogarty, L.A. Lange, C.W. Kuzawa, T.W. McDade, J.B. Borja, J. Luo, O. AbdelBaky, T.P. Combs, L.S. Adair, E.M. Lange, K.L. Mohlke // *Human Molecular Genetics*. - 2012. - Vol. 21, № 2. - P. 463–471.

192. Polfus, L.M.; NHLBI Trans-Omics for Precision Medicine Consortium. Whole genome sequence association with E-selectin levels reveals loss-of-function variant in African Americans / L.M. Polfus, L.M. Raffield, M.M. Wheeler, R.P. Tracy, L.A. Lange, G. Lettre, A. Miller, A. Correa, R.P. Bowler, J.C. Bis, S. Salimi, N.S. Jenny, V Pankratz, B. Wang, M.H. Preuss, L. Zhou, A. Moscati, G.N. Nadkarni, R.J.F. Loos, X. Zhong, B. Li, J.M. Johnsen, D.A. Nickerson, A.P. Reiner, P.L. Auer; NHLBI Trans-Omics for Precision Medicine Consortium // *Human Molecular Genetics*. - 2019. - Vol. 28, № 3. - P. 515–523.