

ПРОФИЛЬ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА У БОЛЬНЫХ COVID-19 РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

**Долгушина Н.В., Менжинская И.В., Безнощенко О.С.,
Муллабаева С.М., Городнова Е.А., Кречетова Л.В.**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. COVID-19 – тяжелый острый респираторный синдром, вызванный SARS-CoV-2, может предрасполагать к тромботическим событиям, особенно при сочетании с антифосфолипидными антителами (аФЛ). Однако имеются ограниченные данные о распространенности и антигенной специфичности аФЛ при COVID-19. Предполагается, что активация комплемента играет важную роль в патогенезе COVID-19-ассоциированной коагулопатии. В условиях пандемии SARS-CoV-2 необходимо выявить значимые биомаркеры для прогнозирования тяжелого течения COVID-19 и риска тромботических осложнений. Цель – оценить профиль аФЛ, количественное содержание компонентов и активность комплемента у больных с COVID-19 разной степени тяжести в динамике.

С помощью ИФА в сыворотке крови определяли антитела (М, G) к кардиолипину (КЛ), фосфатидилсерину (ФС), β 2-гликопротеину-I (β 2-ГП-I), протромбину (ПТ), аннексину V (Ан V), компоненту комплемента C1q, содержание компонентов комплемента C3 и C4, общую активность комплемента. В исследование включили 141 больного COVID-19, группу 1 составили 39 пациентов с легкой формой, группу 2 – 65 пациентов со среднетяжелой формой, группу 3 – 37 пациентов с тяжелой формой COVID-19. Образцы крови были получены на 3-7-й день заболевания (1-я точка) и через 14-28 дней (2-я точка).

аФЛ были обнаружены суммарно у 29,1% больных COVID-19, частота выявления аФЛ в группах не различалась (35,9%, 23,1% и 32,4%; $p > 0,05$). У 8,5% больных аФЛ обнаруживались только в 1-й точке, у 14,2% – только во 2-й точке, у 6,4% – в двух точках измерения. Более часто выявлялись антитела к ПТ (15,6%) и Ан V (11,3%). Частота выявления антител к ПТ была значимо выше, чем антител к КЛ и ФС (7,1%), β 2-ГП-I (7,8%). Распространенность аФЛ в группах 1 и 3 не различалась. В 1-ой точке в группе 3 повышение уровня C4 (89,2%) и C3 (24,3%) в крови и снижение активности комплемента (35,1%) наблюдалось чаще, чем в группе 1. Во 2-й точке в группе 3 часто выявлялось снижение активности комплемента (59,5%). Установлено, что при уровне C3 > 720 мкг/мл риск развития тяжелой формы COVID-19 повышается в 2,6 раза, а при уровне C4 > 740 мкг/мл – в 3,3 раза.

У больных COVID-19 при низкой распространенности антител к КЛ и β 2-ГП-I часто обнаруживаются антитела к ПТ и Ан V. Эти антитела могут вовлекаться в патогенез COVID-19-ассоциированной

Адрес для переписки:

*Менжинская Ирина Владимировна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр акушерства, гинекологии и перинатологии
имени академика В.И. Кулакова» Министерства
здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Акад. Опарина, 4.
Тел.: 8 (495) 438-11-83.
Факс: 8 (495) 438-49-65.
E-mail: i_menzinskaya@oparina4.ru*

Address for correspondence:

*Menzhinskaya Irina V.
V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics,
Gynecology and Perinatology
117997, Russian Federation, Moscow, Acad. Oparin str., 4.
Phone: 7 (495) 438-11-83.
Fax: 7 (495) 438-49-65.
E-mail: i_menzinskaya@oparina4.ru*

Образец цитирования:

*Н.В. Долгушина, И.В. Менжинская, О.С. Безнощенко,
С.М. Муллабаева, Е.А. Городнова, Л.В. Кречетова
«Профиль антифосфолипидных антител и состояние
системы комплемента у больных COVID-19 разной
степени тяжести» // Медицинская иммунология, 2022.
Т. 24, № 2. С. 351-366.*

doi: 10.15789/1563-0625-POA-2465

© Долгушина Н.В. и соавт., 2022

For citation:

*N.V. Dolgushina, I.V. Menzhinskaya, O.S. Beznoshchenko,
S.M. Mullabayeva, E.A. Gorodnova, L.V. Krechetova
“Profile of antiphospholipid antibodies and complement system in
COVID-19 patients of different severity”, Medical Immunology
(Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 2,
pp. 351-366.*

doi: 10.15789/1563-0625-POA-2465

DOI: 10.15789/1563-0625-POA-2465

коагулопатии, выявляются на поздней стадии заболевания и могут запустить АФС у предрасположенных пациентов и реконвалесцентов. Хотя аФЛ не ассоциируются с тяжестью COVID-19, персистенция аФЛ в периоде реконвалесценции может быть дополнительным фактором риска тромбозно-эмболических осложнений. Для больных COVID-19 характерна активация системы комплемента, возрастающая при тяжелой форме заболевания и проявляющаяся подъемом или снижением уровня компонента комплемента С3, повышением уровня С4 в крови и снижением общей активности комплемента. Определение содержания компонентов комплемента С3 и С4 в периоде прогрессирования COVID-19 имеет прогностическое значение в отношении тяжести заболевания.

Ключевые слова: COVID-19, антифосфолипидные антитела, активность комплемента, компонент С3, компонент С4

PROFILE OF ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES AND COMPLEMENT SYSTEM IN COVID-19 PATIENTS OF DIFFERENT SEVERITY

Dolgushina N.V., Menzhinskaya I.V., Beznoshchenko O.S., Mullabayeva S.M., Gorodnova E.A., Krechetova L.V.

V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Abstract. COVID-19, a severe acute respiratory syndrome caused by SARS-CoV-2, may predispose to thrombotic events, especially when combined with antiphospholipid antibodies (aPL). However, there are limited data on prevalence and antigenic specificity of aPL in COVID-19. Complement activation is assumed to play an important role in pathogenesis of COVID-19-associated coagulopathy. During the SARS-CoV-2 pandemic, it is necessary to identify important biomarkers for predicting severe course of COVID-19 and risk of thrombotic complications. Our objective was to evaluate the aPL profile, quantitative content and activity of complement and its components in COVID-19 patients graded by severity in the course of time.

IgM and IgG antibodies to cardiolipin (CL), phosphatidylserine (PS), β 2-glycoprotein-I (β 2-GP-I), prothrombin (PT), annexin V (An V), as well as C1q complement component, content of its C3 and C4 components and total complement activity were determined in blood serum using ELISA approach. 141 patients with COVID-19 were included in the study. Group 1 consisted of 39 patients with mild form, group 2 (65 patients) presented with moderate form, and group 3 included 37 patients with severe form of COVID-19. Blood samples were obtained on day 3-7 of the disease (1st point) and after 14-28 days (2nd point). The results were as follows: aPL were detected in 29.1% of the total COVID-19 cohort, frequency of aPL detection by the severity grade did not differ (33.3%, 24.6% and 32.4%). In 8.5% of the patients, aPL were detected only at the 1st time point; in 14.2%, only at the 2nd point; and in 6.4% of the cases, at the both time points. Antibodies to PT (16.3%) and An V (11.3%) were revealed more frequently. The detection frequency of antibodies to PT was significantly higher than antibodies to CL and PS (7.1%), β 2-GP-I (7.8%). The prevalence of aPL in groups 1 and 3 did not differ. At the 1st point in group 3, increased levels of C4 (89.2%) and C3 (24.3%) in blood, and a decrease in complement activity (35.1%) were more often observed than in group 1. At the 2nd time point in group 3, a decrease in complement activity was often detected (59.5%). The C3 levels exceeding 720 μ g/ml were found to predict a 2.6-fold increased risk of severe COVID-19, and this risk became 3.3 times higher at C4 levels of > 740 μ g/ml.

The antibodies to PT and An V are often detected in COVID-19 patients, along with low prevalence of antibodies to CL and β 2-GP-I. These antibodies can be involved in pathogenesis of COVID-19-associated coagulopathy, being detectable at the late stage of the disease, and they may trigger APS in predisposed patients and reconvalescents. Although presence of aPL antibodies is not associated with COVID-19 severity, their persistence over the period of convalescence may be an additional risk factor for thromboembolic complications. The COVID-19 patients are characterized by activation of the complement system, which increases in severe cases, and manifests with increased or decreased levels of C3 complement component, increased levels of C4 component in blood, and a decreased total complement activity. Quantitative determination of C3 and C4 complement components over the period of COVID-19 progression is of prognostic value, with respect to severity of the disease.

Keywords: antiphospholipid antibodies, COVID-19, complement, component C3, component C4

Работа выполнена в рамках экспериментального научного исследования 121020500102-4.

Введение

COVID-19 — тяжелая острая респираторная инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2, которая ассоциируется с коагулопатией и диссеминированным внутрисосудистым свертыванием (ДВС) [4]. Тромботические осложнения являются распространенными у пациентов с COVID-19 и включают образование тромбов как в крупных сосудах, так и в микроциркуляторном русле легких и других органов [2]. Механизмы COVID-19-ассоциированной коагулопатии включают активацию коагуляции, эндотелиопатию, повышение врожденного и адаптивного иммунитета и активности системы комплемента [19, 23]. Особенно неблагоприятно сочетание коагулопатии при COVID-19 с антифосфолипидными антителами (аФЛ), способными вызывать протромботические эффекты [36]. При этом наличие аФЛ может быть как проявлением антифосфолипидного синдрома (АФС), так и транзиторным, что наблюдается и при других острых инфекциях [3].

Наличие в крови антител класса М и/или G к кардиолипину (КЛ) и/или к β 2-гликопротеину-1 (β 2-ГП-1) и волчаночного антикоагулянта (ВА), выявленное дважды с интервалом в 12 недель, относится к лабораторным критериям АФС, представляющего собой системное аутоиммунное заболевание, клинически проявляющееся сосудистым тромбозом и/или осложнениями беременности, наиболее часто ранним привычным выкидышем [7]. Диагноз «АФС» ставится при сочетании характерных клинических проявлений и лабораторных критериев. В случае серонегативного АФС, когда при наличии клинических признаков АФС лабораторные критерии не выявляются, проводят более широкое исследование аФЛ другой специфичности, включая антитела к фосфатидилсерину (ФС), фосфатидилэтаноламину (ФЭ), протромбину (ПТ), аннексину V (Ан V), антитела класса А к КЛ, β 2-ГП-1 и другие [32].

Наличие аФЛ может повысить риск тромбоза при COVID-19 [36]. В настоящее время имеются ограниченные данные о частоте встречаемости аФЛ во время инфекции, вызванной SARS-CoV-2, и их антигенной специфичности. Не ясно, является ли повышение аФЛ транзиторным и вовлекаются ли аФЛ в нарушения гемостаза при COVID-19. В нескольких отчетах сообщается о наличии аФЛ у отдельных больных COVID-19 и в небольших когортах пациентов, однако представленные данные ограничены и имеют противоречивые результаты [6, 13, 14, 35]. Некоторые исследователи предполагают важную роль аФЛ при COVID-19, в то время как другие отмечают

слабую корреляцию между аФЛ и тромботическими событиями.

При COVID-19 наблюдается нарушение функции и повреждение эндотелиальных клеток с развитием эндотелиопатии, что впоследствии приводит к повреждению тканей и тромбозу. При этом развитию эндотелиопатии, кроме аутоиммунного ответа, может способствовать активация комплемента, что подтверждается обнаружением тромбогенной эндотелиопатии с отложением компонента C5b-9 мембраноатакующего комплекса (МАС) и C4d в материале биопсии, полученном от больных COVID-19 [12].

Коагуляция и врожденный иммунитет являются главными механизмами в защите от вторжения патогенов, при этом система комплемента играет интегральную роль между врожденным иммунитетом и гемостатическим путем [19]. Комплемент является важным компонентом врожденного иммунного ответа на многие патогены, включая вирусы, и инициатором провоспалительных реакций [22, 26]. Система комплемента, представленная набором сериновых протеаз, рецепторов и ингибиторов, усиливает сигналы опасности и потенцирует воспалительные реакции [23]. Однако чрезмерная или нерегулируемая активация комплемента может привести к повреждению органов и тканей самого организма человека [31]. Данные последних исследований позволяют предположить роль системы комплемента в развитии COVID-19-ассоциированной коагулопатии, поскольку у пациентов с тяжелой формой COVID-19 наблюдается тромбообразование непосредственно в ответ на активацию комплемента [25].

Согласно новым данным, активация комплемента играет важную роль в патогенезе и может определять тяжесть заболевания, вызванного SARS-CoV-2 [20, 23]. Предполагается, что при COVID-19 происходит активация системы комплемента по нескольким путям, включая классический, лектиновый и альтернативный пути, в результате генерируются основной комплементарный опсонин C3b и МАС. Образующиеся при активации комплемента анафилатоксины C3a и C5a рекрутируют нейтрофилы и моноциты, способствуют активации иммунных клеток, включая моноциты/макрофаги, Т- и В-лимфоциты. Это приводит к мощному провоспалительному ответу, особенно со стороны макрофагов и нейтрофилов, включающему экспрессию TNF α , IL-1 β и IL-6. Комбинированные эффекты активации комплемента, дисрегуляционной нейтрофилии, повреждения эндотелия и гиперкоагуляции, по видимому, являются взаимосвязанными и обуславливают тяжесть течения COVID-19.

В условиях пандемии SARS-CoV-2 требуется выявление надежных и значимых маркеров для быстрого отбора больных COVID-19 с общим ухудшением клинического состояния, повышенным риском развития тромботических осложнений и коагуляционных нарушений.

Цель исследования — оценить профиль антифосфолипидных антител, количественное содержание компонентов и активность комплемента у больных с COVID-19 разной степени тяжести в динамике.

Материалы и методы

Проводилось обсервационное проспективное исследование, в которое были включены пациенты с COVID-19 разной степени тяжести, всего 141 пациент. Группу 1 составили пациенты с легким течением ($n = 39$), группу 2 — пациенты со среднетяжелым течением ($n = 65$), группу 3 — пациенты с тяжелым течением COVID-19 ($n = 37$). Тяжесть COVID-19 устанавливали в соответствии с временными методическими рекомендациями Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Все пациенты, включенные в исследование, получали антикоагулянтную терапию, вследствие этого в исследовании не было зафиксировано ни одного случая тромбоемболических осложнений (ТЭО).

Критерии включения: возраст старше 18 лет, подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии не включения: беременность или период лактации у женщин, наследственный дефицит факторов свертывания крови, предрасполагающий к геморрагическим состояниям; пурпура и другие геморрагические состояния; онкологические заболевания на период болезни; наличие трансплантированных органов; ВИЧ-инфекция, сифилис и другие острые инфекционные заболевания; постоянное применение антикоагулянтов/антиагрегантов.

Критерии исключения: необходимость проведения хирургического вмешательства во время COVID-19, отказ пациента от продолжения участия в исследовании.

У пациентов группы 1 (пациенты с легкой формой, находящиеся на амбулаторном лечении) забор крови на исследование проводили дважды: на 3-7-й день болезни (1-я точка) и после выздоровления (через 14-28 дней; 2-я точка). У пациентов групп 2 и 3 забор крови на исследование проводили дважды: при госпитализации (1-я точка) и через 14 дней (2-я точка).

Антифосфолипидные антитела определяли в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы

ORGENTEC Diagnostika GmbH (Германия). Количественное определение антител проводили в соответствии с инструкцией по применению фирмы-производителя, прилагаемой к набору. Оптическую плотность (ОП) измеряли на микропланшетном фотометре MULTISCAN EX (Thermo Electron (Shanghai) Instrument Co., Китай) при длине волны 450 нм. Концентрацию антител в исследуемом образце определяли по 4-параметрической калибровочной кривой зависимости ОП от концентрации антител, построенной в линейно-логарифмических координатах. Референсные значения содержания аФЛ (M, G) составляют: антител к КЛ (аКЛ) класса M — < 7 MPL-Ед/мл, класса G — < 10 GPL-Ед/мл, антител к $\beta 2$ -гликопротеину-1 ($\alpha\beta 2$ -ГП-1) — < 8 Ед/мл, к аннексину V (аАн V) — < 8 Ед/мл, к фосфатидилсерину (аФС) — < 10 Ед/мл, к протромбину (аПТ) — < 10 Ед/мл.

Состояние системы комплемента у пациентов оценивали путем определения содержания в сыворотке крови компонентов комплемента C3 и C4, антител к компоненту комплемента C1q и общей активности системы комплемента.

Для определения содержания компонентов комплемента C3 и C4 в сыворотке крови использовали иммуноферментные наборы AssayPro (США). Концентрацию компонентов комплемента C3 или C4 определяли по среднему значению ОП с использованием калибровочной кривой и учетом фактора разведения. Референсные диапазоны составляли для компонента комплемента C3 750-1350 мкг/мл, для C4 — 160-480 мкг/мл.

Определение антител к компоненту комплемента C1q в сыворотке (плазме) крови проводили методом непрямого твердофазного ИФА с использованием набора ORGENTEC Diagnostika GmbH (Германия), включающего микропланшет с иммобилизованным высокоочищенным компонентом комплемента C1q человека. Референсный диапазон антител к C1q составляет < 10 Ед/мл.

Общую активность комплемента оценивали с помощью функционального теста CH50 (DIA. METRA S.r.l., Италия), предназначенного для качественного определения активности комплемента в сыворотке крови и основанного на эффекте растворения комплекса β -галактозидаза/анти- β -галактозидаза в сыворотке в присутствии молекул C3b, которые образуются при активации комплемента, опосредованной альтернативным путем и усиленной действием C3-конвертазы классического пути. Количество диссоциировавшего комплекса β -галактозидазы, детектируемое в конце ферментативной реакции, отражает способность сыворотки образовывать молекулы

СЗв. Результаты анализа выражали в % от референсного калибратора. При этом референсные значения нормальной активности комплемента составляли 51-150%.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Office Excel 2010, MedCalc v. 12, Statistica v. 10 (США). С помощью тестов Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка оценивали нормальность распределения количественных данных в выборках. При нормальном распределении данные представляли средним арифметическим и стандартным отклонением ($M \pm SD$), для оценки различий в группах применяли методы параметрической статистики (t-тест – для сравнения данных в 2 группах, ANOVA – для сравнения данных в 3 группах). При отклонении от нормального распределения данные представляли медианой (Me) с 95%-ным доверительным интервалом (95% ДИ) и интерквартильным размахом Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$), для оценки различий между группами применялись методы непараметрической статистики (тест Манна–Уитни – для сравнения данных в 2 группах, тест Краскела–Уоллиса – для сравнения данных в 3 группах). Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Наличие связи между независимыми переменными и зависимой бинарной переменной оценивали путем проведения ROC-анализа (Receiver Operating Characteristics) и анализа логистической регрессии. Связь между фактором риска и исходом оценивали по величине показателя отношения шансов (OR).

Результаты

Распространенность аФЛ исследовали в трех группах больных с COVID-19 разной степени тяжести. Характеристика и клинично-anamнестические данные больных COVID-19 представлены в таблице 1. В группах 1 и 2 с легким и среднетяжелым течением COVID-19 преобладали женщины, тогда как в группе 3 с тяжелым течением большую часть составляли мужчины (табл. 1). Пациенты в группах со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 были старше по возрасту, в этих группах значимо чаще встречались больные в возрасте ≥ 56 лет. У этих больных вероятность развития более тяжелой формы COVID-19 была в 8,1 раз выше (ОШ = 8,1; 95% ДИ (2,86-22,79); $p = 0,0001$). Средний показатель индекса массы тела (ИМТ) был значимо выше при тяжелой форме инфекции. Пациенты с избыточной массой тела и ожирением (ИМТ ≥ 25 кг/м²) значимо чаще встречались в группе 3, чем в группах 1 и 2, при этом вероятность развития тяжелой формы COVID-19 у данных пациентов была в 3,5 раза

выше (ОШ = 3,5; 95% ДИ (1,46-8,34); $p = 0,009$). Сердечно-сосудистые заболевания, артериальная гипертензия и сахарный диабет чаще наблюдались у больных со среднетяжелой и тяжелой формой COVID-19, чем у больных с легким течением COVID-19. При этом риск развития более тяжелой формы COVID-19 у больных с данными заболеваниями был выше, соответственно, в 3,7 раза (ОШ = 3,7; 95% ДИ (1,42-9,55)), в 3,3 раза (ОШ = 3,3; 95% ДИ (1,28-8,4)) и в 14,1 раза (ОШ = 14,1; 95% ДИ (1,69-116,60)) ($p < 0,05$).

Антифосфолипидные антитела классов М и G различной специфичности суммарно в двух точках измерения были обнаружены у 41 (29,1%) больного с COVID-19 разной степени тяжести (табл. 2), при этом частота выявления аФЛ в трех группах не различалась. У 12 (8,5%) пациентов аФЛ выявлялись только в 1-й точке измерения в разгар заболевания, у 20 (14,2%) – только во 2-й точке в период реконвалесценции и у 9 (6,4%) как в 1-й, так и во 2-й точке измерения. Суммарное количество пациентов с персистенцией аФЛ во время болезни и повышенным уровнем аФЛ в периоде реконвалесценции составило 29 (20,6%), соответственно, по группам 7 (17,9%), 11 (16,9%) и 11 (29,7%) больных ($p = 0,27$).

Антитела к ПТ классов М и G выявлялись наиболее часто суммарно у 22 (15,6%) пациентов, IgM – у 14 (9,9%), IgG – у 10 (7,1%), причем у 14 (9,9%) больных антитела обнаруживались в периоде реконвалесценции. Частота выявления антител к ПТ в трех группах значимо не различалась (табл. 2). У 16 (11,3%) больных COVID-19 были обнаружены антитела к Ан V, при этом IgM-антитела выявлялись у 9 (6,4%), IgG – у 8 (5,7%) больных. Частота выявления антител к ПТ классов М и G была значимо выше, чем антител к КЛ и ФС (у 10 (7,1%)) и $\beta 2$ -ГП-I (у 11 (7,8%) больных) ($p = 0,025$; $p = 0,042$). При этом IgM-антитела к КЛ и ФС были обнаружены у 7 (5%) больных, IgM-антитела к $\beta 2$ -ГП-I – у 8 (5,7%). IgG-антитела к КЛ были выявлены у 3 (2,1%) пациентов, к ФС и $\beta 2$ -ГП-I – у 4 (2,8%) пациентов. Значимых различий в частоте выявления антител разной специфичности в трех группах не отмечалось, хотя IgM-антитела к Ан V в группе 3 выявлялись чаще по сравнению с группой 2 ($p = 0,005$).

Частота выявления аФЛ разной специфичности классов М и G в исследуемых группах пациентов в 1-й и 2-й точках измерения представлена в таблице 3. Значимого различия в распространенности аФЛ у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания не обнаружено ни в периоде разгара заболевания, ни в периоде реконвалесценции.

Уровень аФЛ у серопозитивных пациентов в 31 (75,6%) случае соответствовал низкому диа-

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА И КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ БОЛЬНЫХ С COVID-19 РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 1. CHARACTERISTICS AND CLINICAL AND ANAMNESTIC DATA OF PATIENTS WITH COVID-19 OF DIFFERENT SEVERITY

Показатель Parameter		Группа 1 Group 1 n = 39	Группа 2 Group 2 n = 65	Группа 3 Group 3 n = 37	Значение p p value
Пол Gender	мужчины men	7 (17,9%)	24 (36,9%)	22 (59,5%)	0,0009***
	женщины women	32 (82,1%)	41 (63,1%)	15 (40,5%)	
Возраст, лет Age, years		38 (34-54)	60 (43-78)	63 (53-71)	0,0001**
Возраст ≥ 56 лет Age ≥ 56 years		8 (20,5%)	41 (63,1%)	25 (67,6%)	< 0,0001***
ИМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²		25,2±4,4	27,4±6,2	29,1±5,3	0,0092*
ИМТ ≥ 25 кг/м ² BMI ≥ 25 kg/m ²		19 (48,7%)	34 (52,3%)	29 (78,4%)	0,0138***
Хронические заболевания легких Chronic lung diseases		4 (10,3%)	10 (15,4%)	5 (13,5%)	0,7596***
Сердечно-сосудистые заболевания Cardiovascular diseases		7 (17,9%)	29 (44,6%)	13 (35,1%)	0,0218***
Артериальная гипертензия Arterial hypertension		13 (33,3%)	40 (61,5%)	23 (62,2%)	0,0101***
Сахарный диабет Diabetes mellitus		1 (2,6%)	15 (23,1%)	10 (27,0%)	0,0096***
ЛОР-заболевания ENT disorders		10 (25,6%)	9 (13,8%)	1 (2,7%)	0,0164***
Ревматические болезни Rheumatic diseases		2 (5,1%)	4 (6,1%)	3 (8,1%)	0,8638***
ТЭО в анамнезе History of TEC		0	1 (1,5%)	1 (2,7%)	0,6052***

Примечание. * – M±SD, ANOVA; ** – Me (X-Y), тест Краскела–Уоллиса; *** – абс. число (%), χ^2 -тест.

Note: *, M±SD, ANOVA; **, Me (X-Y), Kruskal-Wallis test; ***, abs. number (%), χ^2 -test

пазону концентраций (< 20 Ед/мл) и только в 10 случаях соответствовал среднему диапазону концентраций (20-60 Ед/мл), в частности 6 случаев IgM-антител к ПТ, 2 случая IgG-антител к Ан V, 1 случай IgG-антител к ПТ и 1 случай IgM-антител к β 2-ГП-I и ФС. Антифосфолипидные антитела в среднем титре выявлялись как в группах 1 и 2 (по 4 случая, 10,3% и 6,2%), так и в группе 3 (2 случая, 5,4%) ($p > 0,05$).

У больных COVID-19 во всех трех группах средний уровень аФЛ соответствовал нормальному диапазону концентраций как в 1-й, так и во 2-й точке измерения. Однако в группе 3 во 2-й точке измерения был выявлен более высокий средний уровень IgM-антител к Ан V (3,97±2,46 Ед/мл), чем в группах 1 и 2 (2,55±1,36 Ед/мл; 2,47±2,26 Ед/мл) ($p = 0,003$),

а также IgG-антител к ФС (3,54±2,39 Ед/мл) по сравнению с группами 1 и 2 (2,92±1,08 Ед/мл; 2,33±1,64 Ед/мл) ($p = 0,004$). В то же время в группе 1 в 1-й точке измерения отмечался более высокий средний уровень IgM- и IgG-антител к Ан V (3,51±1,75 Ед/мл; 4,64±3,37 Ед/мл), чем в группе 2 (2,22±1,16 Ед/мл; 2,87±2,01 Ед/мл) и в группе 3 (2,97±1,57 Ед/мл; 3,78±1,74 Ед/мл) ($p < 0,0001$; $p = 0,002$), а также более высокий уровень IgG-антител к ПТ (5,24±3,45 Ед/мл), чем в группах 2 и 3 (3,95±1,85 Ед/мл; 4,84±2,06 Ед/мл) ($p = 0,025$).

При сравнении среднего уровня антител в двух точках измерения была отмечена тенденция к снижению уровня практически всех аФЛ класса М во 2-й точке в периоде реконвалесценции (диапазон коэффициента регрессии $r = 0,20-0,80$,

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ КЛАССОВ М И G СУММАРНО И ПО ВИДАМ СПЕЦИФИЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ COVID-19 РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 2. FREQUENCY OF DETECTION OF ANTIPOSPHOLIPID ANTIBODIES OF CLASSES M AND G IN TOTAL AND BY TYPE OF SPECIFICITY IN PATIENTS WITH COVID-19 OF DIFFERENT SEVERITY

Параметр Parameter	Группа 1 Group 1 n = 39	Группа 2 Group 2 n = 65	Группа 3 Group 3 n = 37	Значение p p value
аФЛ IgM + IgG aPL IgM + IgG	14 (35,9%)	15 (23,1%)	12 (32,4%)	0,72
аФЛ IgM aPL IgM	8 (20,5%)	9 (13,8%)	10 (27%)	0,26
аФЛ IgG aPL IgG	7 (17,9%)	6 (9,2%)	6 (16,2%)	0,38
аβ2-ГП-I IgM + IgG aβ2-GP-I IgM + IgG	4 (10,3%)	6 (9,2)	1 (2,7%)	0,39
аβ2-ГП-I IgM aβ2-GP-I IgM	3 (7,7%)	4 (6,2)	1 (2,7%)	0,35
аβ2-ГП-I IgG aβ2-GP-I IgG	1 (2,6%)	2 (3,1%)	1 (2,7%)	0,96
аКЛ IgM + IgG aCL IgM + IgG	3 (7,7%)	5 (7,7%)	2 (5,4%)	0,89
аКЛ IgM aCL IgM	3 (7,7%)	3 (4,6%)	1 (2,7%)	0,32
аКЛ IgG aCL IgG	0	2 (3,1%)	1 (2,7%)	0,41
аФС IgM + IgG aPS IgM + IgG	3 (7,7%)	5 (7,7%)	2 (5,4%)	0,89
аФС IgM aPS IgM	3 (7,7%)	3 (4,6%)	1 (2,7%)	0,32
аФС IgG aPS IgG	0	2 (3,1%)	2 (5,4%)	0,16
аПТ IgM + IgG aPT IgM + IgG	9 (23,1%)	7 (10,8%)	6 (16,2%)	0,24
аПТ IgM aPT IgM	5 (12,8%)	4 (6,2%)	5 (13,5%)	0,94
аПТ IgG aPT IgG	4 (10,3%)	3 (4,6%)	3 (8,1%)	0,70
аАн V IgM + IgG aAn V IgM + IgG	6 (15,4%)	3 (4,6%)	7 (18,9%)	0,059
аАн V IgM aAn V IgM	2 (5,1%)	1 (1,5%)	6 (16,2%)	0,053
аАн V IgG aAn V IgG	4 (10,3%)	2 (3,1%)	2 (5,4%)	0,35

Примечание. Абс. число (%), χ^2 -тест при сравнении показателей трех групп.

Note. Abs. number (%), χ^2 is a test when comparing the parameters of three groups.

$p < 0,0001$), исключение составили IgM-антитела к Ан V в группе с тяжелым течением COVID-19, уровень которых напротив значимо повысился ($2,97 \pm 1,57$ Ед/мл в 1-й точке; $3,97 \pm 2,46$ Ед/мл во 2-й точке) ($p = 0,04$). Аналогичная тенденция к снижению во 2-й точке наблюдалась в динамике изменения уровня аФЛ класса G, однако у па-

циентов с тяжелым течением инфекции отмечалась тенденция к росту уровня IgG-антител к КЛ ($2,65 \pm 1,44$ Ед/мл в 1-й точке, $2,92 \pm 1,81$ Ед/мл во 2-й точке) и ПТ ($4,84 \pm 2,06$ Ед/мл в 1-й точке; $5,07 \pm 2,65$ Ед/мл во 2-й точке) ($p > 0,05$). Таким образом, значимой связи между персистенцией аФЛ и тяжестью течения COVID-19 не обнаруже-

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ КЛАССОВ М И G У БОЛЬНЫХ COVID-19 РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ В ДВУХ ТОЧКАХ ИЗМЕРЕНИЯ

TABLE 3. FREQUENCY OF DETECTION OF ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES OF CLASSES M AND G IN PATIENTS WITH COVID-19 OF DIFFERENT SEVERITY AT TWO MEASUREMENT POINTS

Параметр Parameter	Группа 1 Group 1 n = 39	Группа 2 Group 2 n = 65	Группа 3 Group 3 n = 37	Значение p p value
аКЛ IgM, 1-я т. aCL IgM, 1 st p.	1 (2,6%)	3 (4,6%)	1 (2,7%)	0,82
аКЛ IgM, 2-я т. aCL IgM, 2 nd p.	2 (5,1%)	2 (3,1%)	1 (2,7%)	0,82
аКЛ IgG, 1-я т. aCL IgG, 1 st p.	0	1 (1,5%)	0	0,56
аКЛ IgG, 2-я т. aCL IgG, 2 nd p.	0	2 (3,1%)	1 (2,7%)	0,61
аβ2-ГП-I IgM, 1-я т. aβ2-GP-I IgM, 1 st p.	1 (2,6%)	3 (4,6%)	1 (2,7%)	0,82
аβ2-ГП-I IgM, 2-я т. aβ2-GP-I IgM, 2 nd p.	2 (5,1%)	4 (6,2%)	1 (2,7%)	0,74
аβ2-ГП-I IgG, 1-я т. aβ2-GP-I IgG, 1 st p.	1 (2,6%)	1 (1,5%)	1 (2,7%)	0,90
аβ2-ГП-I IgG, 2-я т. aβ2-GP-I IgG, 2 nd p.	0	1 (1,5%)	0	0,56
аАн V IgM, 1-я т. aAn V IgM, 1 st p.	1 (2,6%)	0	1 (2,7%)	0,42
аАн V IgM, 2-я т. aAn V IgM, 2 nd p.	2 (5,1%)	1 (1,5%)	5 (13,5%)	0,042
аАн V IgG, 1-я т. aAn V IgG, 1 st p.	2 (5,1%)	1 (1,5%)	1 (2,7%)	0,56
аАн V IgG, 2-я т. aAn V IgG, 2 nd p.	2 (5,1%)	1 (1,5%)	1 (2,7%)	0,56
аФС IgM, 1-я т. aPS IgM, 1 st p.	1 (2,6%)	3 (4,6%)	1 (2,7%)	0,82
аФС IgM, 2-я т. aPS IgM, 2 nd p.	2 (5,1%)	2 (3,1%)	1 (2,7%)	0,82
аФС IgG, 1-я т. aPS IgG, 1 st p.	0	2 (3,1%)	2 (5,4%)	0,36
аФС IgG, 2-я т. aPS IgG, 2 nd p.	0	1 (1,5%)	0	0,56
аПТ IgM, 1-я т. aPT IgM, 1 st p.	3 (7,7%)	1 (1,5%)	2 (5,4%)	0,29
аПТ IgM, 2-я т. aPT IgM, 2 nd p.	2 (5,1%)	3 (4,6%)	4 (10,8%)	0,47
аПТ IgG, 1-я т. aPT IgG, 1 st p.	3 (7,7%)	1 (1,5%)	1 (1,5%)	0,25
аПТ IgG, 2-я т. aPT IgG, 2 nd p.	2 (5,1%)	2 (3,1%)	3 (8,1%)	0,53

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

но, однако обращает на себя внимание высокая частота выявления антител к ПТ и Ан V у больных COVID-19 по сравнению с критериальными антителами, а также значительная распространенность аФЛ у реконвалесцентов.

Особый интерес представляла оценка состояния системы комплемента у больных COVID-19 разной степени тяжести. Исследование содержания компонентов комплемента С3 и С4 в крови и общей активности системы комплемента в тесте СН50 выявило активацию системы комплемента у всех больных независимо от степени тяжести заболевания. В 1-й точке измерения отмечалось повышение уровня компонента С4 в крови, более выраженное при тяжелых формах заболевания, при этом частота выявления повышенного уровня С4 в группе 3 (у 33 (89,2%)) была значимо выше, чем в группе 1 (у 27 (69,2%); $p = 0,034$), а в группе 2 (у 52 (80%)) не различалась с таковой в группе 1 ($p = 0,21$). Вероятность повышения содержания С4 у больных с тяжелой формой COVID-19 была выше в 3,7 раза, чем у больных с легкой формой (ОШ = 3,67; 95% ДИ (1,06-12,68); $p = 0,04$). У пациентов в группах 1 и 2 часто наблюдалось снижение уровня компонента С3 (у 24 (61,5%) и у 37 (56,9%)), значимо чаще, чем повышение этого показателя (у 3 (7,7%) и у 5 (7,7%); $p < 0,0001$). В группе 3 частота выявления снижения (у 16 (43,2%)) и повышения (у 9 (24,3%)) уровня С3 значимо не различалась, однако повышенный уровень С3 выявлялся в группе 3 значимо чаще, чем в группах 1 и 2 ($p = 0,049$; $p = 0,02$).

Общая активность комплемента по результатам теста СН50 была снижена в группе 1 у 4 (10,3%), в группе 2 у 18 (27,7%) и в группе 3 у 13 (35,1%) пациентов, частота выявления снижения активности комплемента в группах 2 и 3 была значимо выше, чем в группе 1 ($p = 0,036$; $p = 0,01$). Вероятность снижения общей активности комплемента в группе 3 была в 4,7 раза выше, чем в группе 1 (ОШ = 4,7; 95% ДИ (1,38-16,3); $p = 0,014$). Такие же тенденции к изменению показателей комплемента наблюдались и во 2-й точке измерения. Однако в группе 3 значимо реже отмечалось повышение уровня С4 (у 18 (48,6%); $p = 0,0002$), и наоборот чаще выявлялось снижение общей активности комплемента (у 22 (59,5%); $p = 0,037$). Вероятность снижения общей активности комплемента во 2-й точке измерения в группе 3 была в 6,7 раза выше, чем в группе 1 (ОШ = 6,7; 95% ДИ (2,35-16,3); $p = 0,0004$).

В таблице 4 представлены содержание компонентов комплемента С3, С4, антител к С1q в крови и общая активность комплемента (СН50) у больных с COVID-19 разной степени тяжести в динамике в двух точках измерения. Средний уровень С3 в 1-й точке в разгар заболевания соответ-

ствовал нормальному диапазону концентраций, при этом у пациентов группы 3 с тяжелым течением болезни был значимо выше, чем в группах 1 и 2. Этот показатель также повышался во 2-й точке, однако значимого изменения уровня С3 в динамике не отмечалось. Средний уровень С4 в 1-й точке в трех группах был выше верхней границы нормального диапазона концентраций, а у пациентов в группе 3 был значимо выше, чем в группе 1, и не различался между группами во 2-й точке. При этом отмечалось значимое снижение уровня С4 в периоде реконвалесценции по сравнению с уровнем в периоде разгара заболевания.

Средний показатель общей активности комплемента в тесте СН 50 в 1-й точке соответствовал нормальному диапазону, однако был значимо ниже в группе 3 по сравнению с группами 1 и 2, при этом в периоде реконвалесценции отмечалось снижение этого показателя ниже нормы по сравнению с таковым в начале заболевания. Средние уровни антител к С1q у больных COVID-19 разной степени тяжести соответствовали нормальному диапазону концентраций как в 1-й, так и во 2-й точках измерения. Повышение уровня антител к С1q наблюдалось только в 3 случаях у больных с легкой формой COVID-19 во 2-й точке измерения. При этом у данных пациентов наблюдалась выраженная активация системы комплемента с повышением уровня компонента комплемента С4, компонент комплемента С3 был повышен только в одном случае. При тяжелой форме COVID-19 средний уровень антител к С1q соответствовал нормальному, однако был значимо ниже, чем при легкой и среднетяжелой форме. Среднее содержание антител к С1q в крови у больных с легкой, средней или тяжелой формой COVID-19 в 1-й и 2-й точках не различалось, значения p составляли 0,69, 0,087 и 0,44 соответственно. С помощью ROC-анализа были найдены пороговые значения показателей содержания компонентов комплемента С3 и С4 в крови, отличающие пациентов с тяжелым течением COVID-19 от пациентов с легким течением COVID-19. Пороговое значение компонента С3 в периоде разгара заболевания составило 720 мкг/мл, компонента С4 – 740 мкг/мл. Определение содержания компонентов комплемента С3 и С4 в крови позволяло эффективно дифференцировать пациентов с легкой и тяжелой формой COVID-19 и характеризовалось достаточно высокими показателями чувствительности, специфичности, АUC и положительной прогностической значимости в отношении тяжелой формы COVID-19 (табл. 5) При этом вероятность развития тяжелой формы COVID-19 у пациентов с уровнем С3 в крови в периоде разгара заболевания > 720 мкг/мл была выше в 2,6 раза (ОШ = 2,6;

ТАБЛИЦА 4. СОДЕРЖАНИЕ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕМЕНТА C3 И C4, АНТИТЕЛ К C1q В КРОВИ И ОБЩАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕМЕНТА (CH50) У БОЛЬНЫХ COVID-19 РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 4. CONTENT OF COMPLEMENT COMPONENTS C3 AND C4, ANTIBODIES TO C1q IN THE BLOOD AND THE TOTAL COMPLEMENT ACTIVITY (CH50) IN PATIENTS WITH COVID-19 OF DIFFERENT SEVERITY

Параметр Parameter	Группа 1 Group 1 n = 39	Группа 2 Group 2 n = 65	Группа 3 Group 3 n = 37	Значение p p value
C3, мкг/мл, 1 т. C3, µg/ml, 1 st p.	777,3±431,8	786,6±345,1	1026,4±501,4	0,0095 0,9038*; 0,0213**; 0,0047***
C3, мкг/мл, 2 т. C3, µg/ml, 2 nd p.	902,0±436,2 p = 0,2323^	813,7±359,6 p = 0,6724^	1012,3±482,0 p = 0,8861^	0,0985 0,3066*; 0,3408**; 0,0300***
C4, мкг/мл, 1 т. C4, µg/ml, 1 st p.	676,1±221,9	738,3±287,2	793,8±271,5	0,1602 0,2488*; 0,0416**; 0,3414***
C4, мкг/мл, 2 т. C4, µg/ml, 2 nd p.	543,6±197,7 p = 0,0106^	588,8±208,8 p = 0,0015^	542,8±232,9 p = 0,0001^	0,5019 0,3214*; 0,9866**; 0,3409***
CH50, %, 1 т. CH50, %, 1 st p.	71,3±16,3	74,9±35,5	60,1±27,9	0,0504 0,5473*; 0,0355**; 0,0315***
CH50, %, 2 т. CH50, %, 2 nd p.	62,2±17,4 p = 0,0262^	61,3±36,2 p = 0,0384^	47,2±30,9 p = 0,0720^	0,0796 0,8889*; 0,0197**; 0,0664***
aC1q, Ед/мл, 1 т. aC1q, U/ml, 1 st p.	3,81±1,27	3,37±1,70	2,70±1,02	0,0030 0,1596*; < 0,0001**; 0,0328***
aC1q, Ед/мл, 2 т. aC1q, U/ml, 2 nd p.	4,07±4,49 p = 0,7244^	2,94±1,57 p = 0,0323^	2,47±1,23 p = 0,4840^	0,0352 0,0790*; 0,0487**; 0,1390***

Примечание. M±SD, ANOVA; *, **, *** – значение P при сравнении показателей в группах с легкой и средней, легкой и тяжелой, средней и тяжелой формами COVID-19, соответственно (t-тест); ^ – сравнение динамики показателей в каждой группе в 1-й и 2-й точке (t-тест для связанных выборок).

Note. M±SD, ANOVA; *, **, ***, the P value when comparing parameters in groups with mild and moderate, mild and severe, moderate and severe forms of COVID-19, respectively (t-test); ^, comparison of the dynamics of parameters in each group at the 1st and 2nd point (t-test for related samples).

ТАБЛИЦА 5. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕМЕНТА C3 И C4 В ПЕРИОДЕ РАЗГАРА COVID-19 ДЛЯ РАЗВИТИЯ ТЯЖЕЛОЙ ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

TABLE 5. DIAGNOSTIC VALUE OF DETERMINING THE CONTENT OF COMPLEMENT COMPONENTS C3 AND C4 IN THE PERIOD OF COVID-19 PROGRESSION FOR THE DEVELOPMENT OF SEVERE DISEASE

Параметр Parameter	CV, мкг/мл CV, µg/ml	Se, %	Sp, %	PPV, %	NPV, %	AUC, 95% ДИ	Значение p p value
Компонент комплемента C3 Complement component C3	> 720	61,5	62,2	60,7	62,9	0,670 (0,552-0,773)	0,006
Компонент комплемента C4 Complement component C4	> 740	62,2	66,7	63,9	65,0	0,647 (0,529-0,753)	0,021

Примечание. CV – значение критерия, Se – чувствительность, Sp – специфичность, PPV – положительная прогностическая значимость, NPV – отрицательная прогностическая значимость, AUC – площадь под ROC-кривой, p – уровень значимости.

Note. CV, the value of the criterion, Se, sensitivity, Sp, specificity, PPV, positive prognostic significance, NPV, negative prognostic significance, AUC, the area under the ROC curve, P, the significance level.

95% ДИ (1,04-6,6); $p = 0,041$), а при уровне С4 в крови > 740 мкг/мл – в 3,3 раза (ОШ = 3,3; 95% ДИ (1,28-8,42); $p = 0,013$). Как показал логистический регрессионный анализ, диагностическая точность тестов для определения компонентов комплемента С3 и С4 в крови в отношении развития тяжелой формы COVID-19 составляла, соответственно, 61,8% и 63,2% ($p = 0,019$; $p = 0,037$).

Обсуждение

По результатам исследования мужской пол, более старший возраст, избыточная масса тела и ожирение являются безусловными факторами риска тяжести COVID-19, что согласуется с данными других исследований. Пациенты со среднетяжелой и тяжелой формой болезни значимо чаще страдали от сердечно-сосудистых заболеваний, включая артериальную гипертензию, и от сахарного диабета 2-го типа. Для мужчин характерен более высокий уровень экспрессии протеина ACE2 в альвеолярных эпителиоцитах, чем у женщин [33]. Возможно, именно поэтому мужчины болеют COVID-19 более тяжело, чем женщины. Были получены доказательства того, что избыточная масса тела и ожирение в 2,3 раза повышают шансы развития тяжелых форм инфекции, о чем свидетельствуют данные мета-анализа [8, 15]. Это связано с частым сочетанием ожирения с соматическими, эндокринными заболеваниями, метаболическими расстройствами и иммунными нарушениями [1].

У больных COVID-19 отмечается предрасположенность к провоспалительным и гиперкоагуляционным состояниям, повышенному риску тромботических событий и нарушению коагуляции. В ранних сообщениях предполагалась возможная корреляция между аФЛ и COVID-19-ассоциированной коагулопатией, описывались отдельные случаи тромбоза, ассоциированные с позитивностью на антитела к КЛ и 2-ГП-I класса А, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в анамнезе [35]. Однако Harzallah и соавт. выявили позитивность на IgG- и/или IgM-антитела к КЛ и 2-ГП-I только у 10% пациентов [18]. Другие исследования показали низкую распространенность аФЛ и предположили, что аФЛ не могут быть вовлечены в механизм COVID-19-ассоциированной коагулопатии и тромбоза [6, 13]. Предполагается, что определение профиля аФЛ, включающего как критерияльные, так и некритерияльные антитела, может быть полезным в оценке риска тромботических событий у больных COVID-19 [11].

Результаты нашего исследования также показывают низкую частоту выявления у больных COVID-19 антител к КЛ и 2-ГП-I. Однако обращает на себя внимание более высокая распро-

страненность у данных пациентов антител к ПТ и Ан V. При этом у большинства позитивных на аФЛ больных COVID-19 отмечался низкий уровень антител и только у 7,1% пациентов с разной степенью тяжести заболевания наблюдался средний уровень антител. Считается, что в большинстве случаев аФЛ, появляющиеся при вирусных инфекциях, являются транзиторными. Однако в недавнем обзоре показано, что в 71% случаев у больных с вирус-ассоциированными аФЛ развиваются тромботические события [3]. Предполагается, что некоторые транзиторные аФЛ обладают протромботическим потенциалом. Хотя низкие титры аФЛ не являются предикторами тромботических событий при АФС, важно отметить, что при COVID-19 острое системное воспаление с активацией комплемента могут привести к активации и повреждению эндотелия. В этой ситуации при высокой плотности накопления фосфолипид-связывающих протеинов, таких как 2-ГП-I, аннексин V и протромбин, на фосфолипидной поверхности активированного эндотелия даже низкие титры аФЛ могут оказывать патогенное действие, способствуя образованию тромбов. Аналогичная ситуация наблюдается при акушерском АФС, при котором аФЛ даже в низких титрах могут нанести существенный вред вследствие высокого содержания фосфолипид-связывающих протеинов в плаценте.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии какой-либо явной связи тяжести инфекции с персистенцией аФЛ. Повышение уровня аФЛ классов М и G наблюдалось у больных COVID-19 как с легким, так и тяжелым течением заболевания. Очевидно, что даже при легкой форме инфекции возможна избыточная активация эндотелия сосудов, экстернализация фосфолипидов, повышение содержания фосфолипид-связывающих протеинов (2-ГП-I, Ан V и ПТ) на поверхности поврежденного эндотелия и повышенное образование аФЛ. При сравнении частоты выявления аФЛ, измеренных в динамике в двух точках, после перенесенной инфекции у значительной части пациентов сохранялась персистенция аФЛ или наблюдалось появление аФЛ в периоде реконвалесценции. При этом в группе 3 с тяжелым течением COVID-19 отмечалась тенденция к повышению частоты выявления антител к ПТ и Ан V в периоде реконвалесценции, что свидетельствует о большей вероятности персистенции аФЛ при тяжелой форме инфекции. Продолжающийся рост уровня некоторых аФЛ, в частности антител к ПТ и Ан V, в группе 3 даже после перенесенной инфекции может свидетельствовать о наличии активации эндотелия и, как следствие, его тромбогенности и повышенном риске тромбоземболических осложнений в пери-

оде реконвалесценции у больных, перенесших тяжелую форму инфекции.

Особый интерес представляют полученные результаты о преобладании у больных COVID-19 по частоте встречаемости антител (M, G) к ПТ, которые выявлялись значимо чаще, чем критерияльные антитела к КЛ и β 2-ГП-I, и обнаруживались даже в периоде реконвалесценции. Кроме того, у больных COVID-19 с высокой частотой выявлялись антитела к аннексину V. Полученные результаты согласуются с данными Cristiano A. и соавт. (2021), демонстрирующими у больных COVID-19 низкую частоту выявления антител к КЛ и β 2-ГП-I и наличие антител к ПТ и Ан V [9].

Сообщается, что аФЛ могут продуцироваться временно в течение нескольких недель у некоторых пациентов с критической формой инфекции, вызванной SARS-CoV-2 [6]. Однако у некоторых генетически предрасположенных пациентов COVID-19 может спровоцировать возникновение АФС или других аутоиммунных заболеваний [8, 33]. Предлагается проводить дополнительное обследование пациентов, перенесших COVID-19, после выздоровления на аФЛ для выявления возможного позднего вторичного АФС, возникшего в ходе заболевания или в период реконвалесценции, который может повысить риск тромбоза, особенно у пожилых пациентов. При этом для полной клинической манифестации АФС требуется активация комплемента.

У больных COVID-19 активация системы комплемента способствует развитию протромботического состояния и провоспалительного ответа, что обуславливает тяжесть течения заболевания. Результаты определения содержания в крови компонентов комплемента C3 и C4 и показателя общей активности комплемента в тесте CH50 в нашем исследовании показали активацию системы комплемента у всех больных COVID-19 независимо от степени тяжести заболевания. При этом активация системы комплемента в период разгара заболевания проявлялась повышением уровня компонента C4, который участвует в классическом пути активации комплемента, запускаемом под воздействием IgM/IgG в комплексе антиген-антитело, а также снижением или повышением уровня компонента комплемента C3, участвующего как в классическом, так и в лектиновом пути активации комплемента, который активируется углеводными фрагментами патогенов. Эти два пути сходятся на этапе образования комплекса C2bC4b, действующего как C3-конвертаза и облегчающего расщепление C3 на C3a и C3b [5, 27, 28]. Кроме того, альтернативный путь комплемента, представляющий собой петлю амплификации C3, может вносить до 80% в активацию комплемента [17, 24, 34]. Ключевые

эффекторы комплемента включают опсонины, маркирующие груз для фагоцитоза (C1q, C3b и C4b), анафилатоксины (C3a и C5a), являющиеся активаторами иммунитета широкого спектра действия, и MAC, который вызывает лизис клеток и может быть иммуномодулятором [20, 23].

Получены доказательства, свидетельствующие о том, что комплемент хронически активируется при тяжелой форме COVID-19 и, учитывая его потенциал, универсальность и быстроту, хорошо подходит в качестве мишени для лекарственной терапии этого заболевания [10, 25]. Согласно данным последних исследований, активация компонента C3 комплемента усугубляет течение заболевания при остром респираторном дистресс-синдроме, ассоциированном с SARS-CoV-2, а ингибирование C3 может облегчить воспалительные осложнения легких [16]. Ингибирование C3 может одновременно блокировать образование C3a и C5a, а также внутрилегочную активацию C3 и высвобождение IL-6 из альвеолярных макрофагов или других клеток, которые экспрессируют рецепторы C3a (C3aRs) и/или рецепторы C5a (C5aRs), тем самым уменьшая повреждение легких [31].

Наблюдаемое нами значимое снижение C4 во 2-й точке измерения могло быть связано с потреблением C4 в процессе активации системы комплемента и его истощением в периоде реконвалесценции. Активация системы комплемента была наиболее выражена у пациентов с тяжелым течением COVID-19, что проявлялось значимо более высоким уровнем C4 в крови, изменением уровня C3 в сторону его снижения или повышения и более низкой общей активностью комплемента в тесте CH50. Как показал ROC-анализ и логистический регрессионный анализ, определение содержания компонентов комплемента C3 и C4 в крови в период разгара COVID-19 может быть полезным для прогнозирования с высокой вероятностью развития тяжелой формы заболевания. Включение компонентов C3 и C4 в панель исследуемых биомаркеров может способствовать более раннему терапевтическому вмешательству с применением антикомплемментарных препаратов и предупреждению развития тяжелой формы COVID-19.

Содержание IgG-антител к субкомпоненту комплемента C1q, который является пусковым компонентом классического пути активации комплемента, при тяжелой форме COVID-19 соответствовало нормальному диапазону, однако было значимо ниже, чем при легкой и среднетяжелой форме, по-видимому, за счет взаимодействия антител с молекулами C1q, связанными с комплексами антиген-антитело и с фосфолипидными поверхностями, в частности поверхностью

поврежденного эндотелия сосудов. Повышение уровня антител к С1q наблюдалось только в 3 случаях при легкой форме заболевания на фоне выраженной активации системы комплемента. Показано, что при наличии в тканях иммунных комплексов, содержащих С1q, антитела к С1q могут усиливать местную активацию комплемента и повреждение тканей, а также активацию комплемента на апоптотических клетках [30]. В настоящее время анти-С1q антитела рассматриваются как отдельный вид аФЛ, а С1q как ФЛ-связывающий протеин, ассоциируются с активацией комплемента и способны ее усиливать путем увеличения количества связанного IgG и дополнительного генерирования С3 по классическому пути, а также за счет связывания с С1q на фосфолипидной поверхности активированных или поврежденных клеток без участия иммунных комплексов [21, 29].

Заключение

Таким образом, клинико-анамнестическими факторами риска развития более тяжелых форм COVID-19 являются мужской пол, более высокий ИМТ (≥ 25 кг/м²), возраст старше 60 лет, наличие сердечно-сосудистых заболеваний, артериальной гипертензии и сахарного диабета. У больных COVID-19 при низкой распространенности критерияльных антител к КЛ и $\beta 2$ -ГП-I

часто выявляются антитела к протромбину и аннексину V, которые могут вовлекаться в патогенез COVID-19-ассоциированной коагулопатии, детектируются на поздней стадии заболевания и могут запустить АФС у предрасположенных пациентов и реконвалесцентов. Уровень аФЛ во время прогрессирования заболевания не связан с тяжестью COVID-19, персистенция аФЛ в периоде реконвалесценции может быть дополнительным фактором риска тромбоемболических осложнений не только у больных, но также у реконвалесцентов в постковидном периоде. Для больных COVID-19 характерна активация системы комплемента, возрастающая с повышением тяжести заболевания и проявляющаяся подъемом или снижением уровня компонента комплемента С3, повышением уровня С4 в крови и снижением общей активности системы комплемента вследствие длительной активации системы комплемента во время болезни, потребления и истощения ее компонентов. Определение содержания компонентов комплемента С3 и С4 в периоде разгара COVID-19 имеет прогностическое значение для развития тяжелой формы заболевания.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Долгушина Н.В., Кречетова Л.В., Иванец Т.Ю., Вторушина В.В., Инвиева Е.В., Климов В.А., Сухих Г.Т. Влияние иммунного статуса на тяжесть течения COVID-19 // *Акушерство и гинекология*, 2020. № 9. С. 129-137. [Dolgushina N.V., Krechetova L.V., Ivanets T.Y., Vtorushina V.V., Inviyeva E.V., Sukhikh G.T. The impact of the immune status on COVID-19 severity. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2020, no. 9, pp. 129-137. (In Russ.)]
2. Зайратьянц О.В., Самсонова М.В., Михалева Л.М., Черняев А.Л., Мишнев О.Д., Крупнов Н.М., Калинин Д.В. Патологическая анатомия COVID-19: Атлас / Под общ. ред. О.В. Зайратьянца. М.: ГБУ «НИИ-ОЗММ ДЗМ», 2020. 140 с. [Zairatyants O.V., Samsonova M.V., Mikhaleva L.M., Chernyaev A.L., Mishnev O.D., Krupnov N.M., Kalinin D.V. Pathological anatomy of COVID-19: Atlas / General ed. O.V. Zairatyants]. Moscow: Research Institute of Health Organization and Medical Management of the Moscow City Health Department, 2020. 140 p.
3. Abdel-Wahab N., Lopez-Olivo M.A., Pinto-Patarroyo G.P., Suarez-Almazor M.E. Systematic review of case reports of antiphospholipid syndrome following infection. *Lupus*, 2016, Vol. 25, pp. 1520-1531.
4. Asakura H., Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Int. J. Hematol.*, 2021, Vol. 113, no. 1, pp. 45-57.
5. Bohlsон S.S., Garred P., Kemper C., Tenner A.J. Complement nomenclature-deconvoluted. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1308. doi: 10.3389/fimmu.2019.01308.
6. Borghi M.O., Beltagy A., Garrafa E., Curreli D., Cecchini G., Bodio C., Grossi C., Blengino S., Tincani A., Franceschini F., Andreoli L., Lazzaroni M.G., Piantoni S., Masneri S., Crisafulli F., Brugnoli D., Muiesan M.L., Salvetti M., Parati G., Torresani E., Mahler M., Heilbron F., Pregnotato F., Pengo M., Tedesco F., Pozzi N., Meroni P.L. Anti-phospholipid antibodies in COVID-19 are different from those detectable in the anti-phospholipid syndrome. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 584241. doi: 10.3389/fimmu.2020.584241.
7. Cervera R. Antiphospholipid syndrome. *Thromb. Res.*, 2017, Vol. 151, Suppl. 1, pp. S43-S47.

8. Choi W.-Y. Mortality rate of patients with COVID-19 based on underlying health conditions. *Disaster Med. Public Health Prep.*, 2021, Vol. 3, pp. 1-16.
9. Cristiano A., Fortunati V., Cherubini F., Bernardini S., Nuccetelli M. Anti-phospholipids antibodies and immune complexes in COVID-19 patients: a putative role in disease course for anti-annexin-V antibodies. *Clin. Rheumatol.*, 2021, Vol. 40, no. 7, pp. 2939-2945.
10. Cugno M., Meroni P.L., Gualtierotti R., Griffini S., Grovetti E., Torri A., Panigada M., Aliberti S., Blasi F., Tedesco F., Peyvandi F. Complement activation in patients with COVID-19: A novel therapeutic target. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2020, Vol. 146, no. 1, pp. 215-217.
11. Devreese K.M.J., Linskens E.A., Benoit D., Peperstraete H. Antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19: a relevant observation? *J. Thromb. Haemost.*, 2020, Vol. 18, no. 9, pp. 2191-2201.
12. Favaloro E.J., Lippi G. Maintaining hemostasis and preventing thrombosis in coronavirus disease 2019 (COVID-19)-Part I. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2020, Vol. 46, no. 7, pp. 757-762.
13. Galeano-Valle F., Oblitas C.M., Ferreiro-Mazón M.M., Alonso-Muñoz J., del Toro-Cervera J., di Natale M., Demelo-Rodríguez P. Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. *Thromb. Res.*, 2020, Vol. 192, pp. 113-115.
14. Gatto M., Perricone C., Tonello M., Bistoni O., Cattelan A.-M., Bursi R., Cafaro G., de Robertis E., Mencacci A., Bozza S., Vianello A., Iaccarino L., Gerli R., Doria A., Bartoloni E. Frequency and clinical correlates of antiphospholipid antibodies arising in patients with SARS-CoV-2 infection: findings from a multicentre study on 122 cases. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2020, Vol. 38, no. 4, pp. 754-759.
15. Gralinski L.E., Bankhead A., Jeng S., Menachery V.D., Proll S., Belisle S.E., Matzke M., Webb-Robertson B.J., Luna M.L., Shukla A.K., Ferris M.T., Bolles M., Chang J., Aicher L., Waters K.M., Smith R.D., Metz T.O., Law G.L., Katze M.G., McWeeney S., Baric R.S. Mechanisms of severe acute respiratory syndrome coronavirus-induced acute lung injury. *mBio*, 2013, Vol. 4, no. 4, e00271-13. doi: 10.1128/mBio.00271-13.
16. Gralinski L.E., Sheahan T.P., Morrison T.E., Menachery V.D., Jensen K., Leist S.R., Whitmore A., Heise M.T., Baric R.S. Complement activation contributes to severe acute respiratory syndrome coronavirus pathogenesis. *mBio*, 2018, Vol. 9, no. 5, e01753-18. doi: 10.1128/mBio.01753-18.
17. Harboe M., Mollnes T.E. The alternative complement pathway revisited. *J. Cell. Mol. Med.*, 2008, Vol. 12, no. 4, pp. 1074-1084.
18. Harzallah I., Debliquis A., Drénou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with COVID-19. *J. Thromb. Haemost.*, 2020, Vol. 18, no. 8, pp. 2064-2065.
19. Iba T., Warkentin T.E., Thachil J., Levi M., Levy J.H. Proposal of the definition for COVID-19-associated coagulopathy. *J. Clin. Med.*, 2021, Vol. 10, no. 2, 191. doi: 10.3390/jcm10020191.
20. Java A., Apicelli A.J., Liszewski M.K., Coler-Reilly A., Atkinson J.P., Kim A.H., Kulkarni H.S. The complement system in COVID-19: friend and foe? *JCI Insight*, 2020, Vol. 5, no. 15, e140711. doi: 10.1172/jci.insight.140711.
21. Kouser L., Madhukaran S.P., Shastri A., Saraon A., Ferluga J., Al-Mozaini M., Kishore U. Emerging and novel functions of complement protein C1q. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 317. doi: 10.3389/fimmu.2015.00317.
22. Li G., Fan Y., Lai Y., Han T., Li Z., Zhou P., Pan P., Wang W., Hu D., Liu X., Zhang Q., Wu J. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.*, 2020, Vol. 92, no. 4, pp. 424-432.
23. Lo M.W., Kemper C., Woodruff T.M. COVID-19: complement, coagulation, and collateral damage. *J. Immunol.*, 2020, Vol. 205, no. 6, pp. 1488-1495.
24. Lukawska E., Polcyn-Adamczak M., Niemir Z.I. The role of the alternative pathway of complement activation in glomerular diseases. *Clin. Exp. Med.*, 2018, Vol. 18, no. 3, pp. 297-318.
25. Magro C., Mulvey J.J., Berlin D., Nuovo G., Salvatore S., Harp J., Baxter-Stoltzfus A., Laurence J. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl. Res.*, 2020, Vol. 220, pp. 1-13.
26. Mastellos D.C., Ricklin D., Lambris J.D. Clinical promise of next-generation complement therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2019, Vol. 18, no. 9, pp. 707-729.
27. Merle N.S., Church S.E., Fremeaux-Bacchi V., Roumenina L.T. Complement system. Part I – Molecular mechanisms of activation and regulation. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 262. doi: 10.3389/fimmu.2015.00262.
28. Mortensen S.A., Sander B., Jensen R.K., Pedersen J.S., Golas M.M., Jensenius J.C., Golas M.M., Jensenius J.C., Hansen A.G., Thiel S., Andersen G.R. Structure and activation of C1, the complex initiating the classical pathway of the complement cascade. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, no. 5, pp. 986-991.
29. Ohmura K., Oku K., Kitaori T., Amengual O., Hisada R., Kanda M., Shimizu Y., Fujieda Y., Kato M., Bohgaki T., Horita T., Yasuda S., Sugiura-Ogasawara M., Atsumi T. Pathogenic roles of anti-C1q antibodies in recurrent pregnancy loss. *Clin. Immunol.* 2019, Vol. 203, pp. 37-44.
30. Potlukova T., Kralikova P. Complement component C1q and anti-C1q antibodies in theory and in clinical practice. *Scand. J. Immunol.*, 2008, Vol. 67, no. 5, pp. 423-430.
31. Risitano A.M., Mastellos D.C., Huber-Lang M., Yancopoulou D., Garlanda C., Cicceri F., Lambris J.D. Complement as a target in COVID-19? *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, Vol. 20, no. 6, pp. 343-344.

32. Rodríguez-García V., Ioannou Y., Fernández-Nebro A., Isenberg D.A., Giles I.P. Examining the prevalence of non-criteria anti-phospholipid antibodies in patients with anti-phospholipid syndrome: a systematic review. *Rheumatology*, 2015, Vol. 54, no. 11, pp. 2042-2050.
33. Sun P., Lu X., Xu C., Sun W., Pan B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. *J. Med. Virol.*, 2020, Vol. 92, no. 6, pp. 548-551.
34. Thurman J.M., Holers V.M. The central role of the alternative complement pathway in human disease. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 176, no. 3, pp. 1305-1310.
35. Zhang Y., Xiao M., Zhang S., Xia P., Cao W., Jiang W., Chen H., Ding X., Zhao H., Zhang H., Wang C., Zhao J., Sun X., Tian R., Wu W., Wu D., Ma J., Chen Y., Zhang D., Xie J., Yan X., Zhou X., Liu Z., Wang J., Du B., Qin Y., Gao P., Qin X., Xu Y., Zhang W., Li T., Zhang F., Zhao Y., Li Y., Zhang S. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with COVID-19. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 382, no. 17, e38. doi: 10.1056/NEJMc2007575.
36. Zuo Y., Estes S.K., Ali R.A., Gandhi A.A., Yalavarthi S., Shi H., Sule G., Gockman K., Madison J.A., Zuo M., Yadav V., Wang J., Woodard W., Lezak S.P., Lugogo N.L., Smith S.A., Morrissey J.H., Kanthi Y., Knight J.S. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci. Transl. Med.*, 2020, Vol. 12, no. 570, eabd3876. doi: 10.1126/scitranslmed.abd3876.

Авторы:

Долгушина Н.В. — д.м.н., заместитель директора, руководитель департамента организации научной деятельности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Менжинская И.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Безнощенко О.С. — врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Dolgushina N.V., PhD, MD (Medicine), Deputy Director, Head, Department of Research Management, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Menzhinskaya I.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Beznooshchenko O.S., Doctor in Clinical Laboratory Diagnostics, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Муллабаева С.М. — врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Городнова Е.А. — к.м.н., заведующая центром научных и клинических исследований ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Кречетова Л.В. — д.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Mullabayeva S.M., Doctor in Clinical Laboratory Diagnostics, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Gorodnova E.A., PhD (Medicine), Head, Center for Research and Clinical Studies, Doctor in Clinical Laboratory Diagnostics, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Krechetova L.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Clinical Immunology, Doctor in Clinical Laboratory Diagnostics, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Поступила 28.12.2021
Отправлена на доработку 05.01.2022
Принята к печати 13.02.2022

Received 28.12.2021
Revision received 05.01.2022
Accepted 13.02.2022