

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ VDR И ТРОМБИФИЛИИ В РАЗВИТИИ АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРА, АССОЦИИРОВАННОГО С COVID-19

Ирисметов М.Э., Махмудов А.А., Джураев А.М.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр травматологии и ортопедии

Аннотация

Известно, что частота асептического некроза головки бедренной кости значительно возросла во время пандемии COVID-19. В развитии заболевания большое значение имеют применение кортикостероидных препаратов в острой фазе COVID-19, хроническая гиперкоагулопатия, вызванная COVID-19, образ жизни (негативные привычки) больных, генетическая предрасположенность. Известно, что нарушение микроциркуляции крови является важным патогенетическим фактором развития асептического некроза. Поэтому у больных с асептическим некрозом рассчитаны тромбофильные гены, изучены полиморфизмы гена MTHFR A1298C (rs 1801131), C677T (rs 1801133) и гена MTR A2756G (rs1805087), гена MTRR A66G (rs1801394) в узбекской популяции и эти гены, соответственно, C (путем определения важности минорных аллелей rs 1801131), T (rs 1801133), G (rs1805087) и G (rs1801394) в развитии SSBON, связанных с COVID-19, выбирая тех, у кого предрасположенность к развитию заболевания и изучения синтропического действия дополнительных экзогенных факторов (в частности, негативных привычек), путем проведения специальных профилактических и лечебных мероприятий можно снизить частоту встречаемости заболевания ССБОН, связанного с COVID-19, и облегчить тяжесть заболевания.

Ключевые слова: асептический некроз головки бедренной кости, rs1544410, rs1799963, rs6025 полиморфизм, гиперкоагулопатия.

COVID-19 БИЛАН БОҒЛИҚ СОН БОШИНИНГ АСЕПТИК НЕКРОЗИ РИВОЖЛАНИШИДА VDR ВА ТРОМБОФИЛИЯ ГЕНЛАРИ ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ АҲАМИЯТИ

Ирисметов М.Э., Махмудов А.А., Жўраев А.М.

Республика ихтисослаштирилган травматология ва ортопедия илмий-амалий тиббиёт маркази

Аннотация

Маълумки, COVID-19 пандемияси даврида сон бошининг асептик некрози учраш частотаси сезиларли даражада ошиб кетди. Касаллик ривожланишида COVID-19нинг ўткир фазасида қўлланилган кортикостероид препаратлар, COVID-19 туфайли келиб чиққан сурункали гиперкоагулопатия, беморларнинг турмуш тарзи (салбий одатлар) ҳамда генетик мойиллик муҳим аҳамиятга эга. Қон микроциркуляциясининг бузилиши асептик некроз ривожланишининг муҳим патогенетик омилларидан бири ҳисобланади. Шу боис, асептик некроз беморларда тромбофилияга оид генлар ўрганилди, жумладан, ўзбек популяциясида MTHFR A1298C (rs1801131), C677T (rs1801133), MTR A2756G (rs1805087) ва MTRR A66G (rs1801394) генлари полиморфизми таҳлил қилинди. Минор аллелларнинг аҳамияти: C (rs1801131), T (rs1801133), G (rs1805087) ва G (rs1801394) COVID-19 билан боғлиқ сон боши асептик некрози (ССБОН) ривожланишида баҳоланди. Касалликка мойил шахсларни аниқлаш ҳамда қўшимча экзоген омиллар (хусусан, салбий одатлар)нинг синтропик таъсирини ўрганиш орқали махсус профилактик ва даволаш тадбирлари амалга оширилиши мумкин. Бу эса COVID-19 билан боғлиқ ССБОН учраш частотасини камайтириш ва касаллик оғирлигини енгиллаштиришга ёрдам бериши мумкин.

Калит сўзлар: сон бошининг асептик некрози, rs1544410, rs1799963, rs6025 полиморфизм, гиперкоагулопатия.

SIGNIFICANCE OF VDR AND THROMBOPHILIA GENE POLYMORPHISMS IN THE DEVELOPMENT OF ASEPTIC NECROSIS OF THE FEMORAL HEAD ASSOCIATED WITH COVID-19

Irismetov M.E., Makhmudov A.A., Dzhuraev A.M.

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Traumatology and Orthopedics

Abstract

It is known that the incidence of aseptic necrosis of the femoral head has significantly increased during the COVID-19 pandemic. The development of the disease is largely influenced by the use of corticosteroid drugs in the acute phase of COVID-19, chronic hypercoagulopathy induced by COVID-19, patients' lifestyle (negative habits), and genetic predisposition. Microcirculatory blood flow disturbances are considered an important pathogenetic factor in the development of aseptic necrosis. Therefore, in patients with aseptic necrosis, polymorphisms of thrombophilia-related genes were analyzed, including MTHFR A1298C (rs1801131), C677T (rs1801133), MTR A2756G (rs1805087), and MTRR A66G (rs1801394) in the Uzbek population. The roles of the respective minor alleles C (rs1801131), T (rs1801133), G (rs1805087), and G (rs1801394) in the development of steroid- and COVID-19-associated osteonecrosis of the femoral head (SSBON) were assessed. Identifying individuals predisposed to the disease and evaluating the syntropic effects of additional exogenous factors (particularly negative habits) may allow the implementation of targeted preventive and therapeutic measures to reduce the incidence and mitigate the severity of COVID-19-related osteonecrosis.

Keywords: aseptic necrosis of the femoral head, rs1544410, rs1799963, rs6025 polymorphism, hypercoagulopathy.

Введение. Остеонекроз головки бедренной кости (называемый также аваскулярным некрозом) — патологическое состояние, вызывающее гибель остеоцитов, усиление деминерализации и снижение резорбции губчатой костной ткани, изменение трабекулярной архитектуры с течением времени в результате снижения васкуляризации субхондральной кости головки бедренной кости (ГББ) [1, 2]. Хотя понимание патофизиологии и факторов риска SSBON ограничено отсутствием долгосрочных исследований на людях и отсутствием модели двуногого млекопитающего [3], убедительные доказательства указывают на нарушение субхондральной микроциркуляции как важный фактор в развитие болезни. Изучение микроциркуляции ССБ показало, что иннервирующие сосуды субхондральной кости чувствительны к разрыву, внутрисосудистой обструкции и внешней компрессии сосудов [3]. Нарушение перфузии в ретикулярных сосудах приводит к снижению кровоснабжения субхондральной кости головки бедренной кости [4]. В других исследованиях показано, что обширные участки ЗН сопровождаются поражением поверхностных и нижних метафизарных артерий [5].

Возникновение некроза головки бедренной кости (АНГБК) в основном объясняется развитием гибели костных клеток вследствие нарушения микроциркуляции крови. Нарушения микроциркуляторного русла могут возникать по следующим механизмам:

1. Механическое повреждение сосудов;
2. Препятствие нормальному кровотоку в венах в результате действия внутрисосудистых факторов;
3. Препятствие нормальному кровотоку в сосудах в результате внесосудистых факторов [6, 7].

Снижение/остановка кровотока из-за экстраваскулярных факторов. Травма является наиболее частой причиной развития АНГБК [3], приводящей к нарушению нормального кровотока и гибели остеоцитов в результате механической травмы. Оценки возникновения и развития травматического остеонекроза ГБК могут различаться в зависимости от вида

повреждения [8].

Обструкция кровотока из-за внутрисосудистых факторов. Эта обструкция может быть вызвана различными этиологическими факторами, тромбозами или липидными тромбами в результате гиперкоагуляции, развитием внутрисосудистой обструкции в результате повышенной агрегации эритроцитов при заболеваниях, связанных с гемоглобинопатиями.

Генетические дефекты, приводящие к гипофибринолизу или тромбофилии, могут приводить к увеличению тромбообразования и нарушению кровотока в костном кровообращении [10, 11, 12]. Высокий уровень ингибитора активатора плазминогена (PAI) в дополнение к гипофибринолизу был обнаружен у 31% больных с ОН головки бедра [10]. Другое исследование показало, что мутация фактора V была статистически значимо выше у пациентов с ОН, чем в контроле [13]. Jones и соавт. обнаружили, что 82,2% пациентов с ОН имеют по крайней мере один аномальный фактор свертывания крови (генетический дефект) по сравнению с 30 % в контрольной группе без ОН. Сообщалось, что у 50% пациентов, представляющих интерес, были генетические дефекты двух или более факторов свертывания крови [14]. Точно так же высокие уровни липопротеина А, фактора фон Виллебранда и низкие уровни белков С и S, как сообщалось, были статистически более высокими у пациентов с идиопатической ОН и вторичной ОН по сравнению со здоровым контролем [16]. Снижение уровня протеина С и S и резистентность к активированному протеину С вследствие мутаций вызывают гиперкоагуляцию в результате снижения физиологической регуляции протромботических факторов, таких как V и VIII, что способствует развитию внутрисосудистой ишемии и некроза в головке бедренной кости.

Замедление/остановка кровотока из-за внутрикостной экстраваскулярной компрессии. Концепция резистора Старлинга может быть использована для концептуализации этого подмножества этиологий, которые приводят к АНГБК. Этот резистор состоит из камеры со сплошными стенками, через которую проходят сжатые трубки. Течение жидкости по этим трубам связано с действием давления, вызванного внешними факторами камеры. Повышенное давление в пределах внутрикостного внесосудистого пространства, даже если оно не регистрируется постоянно, может уменьшить кровоток, неблагоприятно влияя на кровоток в проходящих через него мелких сосудах [2].

Накопление липидов (отложение жира) и гипертрофия адипоцитов в грудной полости являются двумя основными клиническими состояниями, которые могут снижать кровообращение, вызывая повышение внутрикостного внесосудистого давления [15]. Часто эти состояния связаны со злоупотреблением кортикостероидами или алкоголем, а повышение внесосудистого давления приводит к ишемии элементов костного мозга и остеоцитов ГБК, вызывая гипоперфузию за счет снижения артериального кровотока или демпфирования за счет уменьшения венозного оттока [17]. Было показано, что потребление алкоголя и кортикостероидов увеличивает размер адипоцитов, вызывает ожирение, вызывая нарушения метаболизма липидов, и изменяет тип клеток с остеоцитов на адипоциты [17, 18].

Развитие асептического некроза головки бедренной кости у больных, инфицированных COVID-19, связано с взаимодействием нескольких факторов и имеет большое теоретическое и практическое значение в их понимании, прежде всего, в понимании механизма ишемии в патогенезе COVID-19 и развитие заболевания SSBON, а также в понимании происхождения аваскулярного остеонекроза.

Тип коронавирусов (Coronaviruses - CoVs) принадлежит к семейству "Coronaviridae", и капсид этих вирусов удерживается снаружи короновидными выростами (лат. Corona = означает корона), отсюда и название коронавирусы. В результате исследований ученые пришли к выводу, что SARS-CoV-2 относится к семейству Coronaviridae, подсемейству Coronavirinae и роду Betacoronavirus [21, 22]. Вирус SARS-CoV-2 содержит одну цепь РНК(+) (геном длиной 30 т.п.н.), заключенную в нуклеокапсид, и экспрессирует 16 неструктурных, 4 структурных и 9 вспомогательных белков [23, 24].

Вирус SARS-CoV-2 отличается от других коронавирусов очень быстрым распространением и широкой адаптивностью, высокой скоростью образования новых штаммов, проявляет тропность ко многим органам, используя несколько рецепторов (в частности, альвеолярные клетки II типа, энтероциты, нейроны, повреждает кардиомиоциты, холангиоциты печени, проксимальные канальцы почек, клетки мочеполовой системы через рецептор ACE2, макрофаги, моноциты и Т-лимфоциты через CD147 и лектиновый рецептор S-типа), в тяжелых случаях атипичная пневмония, острый респираторный дистресс-синдром, легочные фиброз, «цитокиновый шторм», установлено, что он вызывает васкулитные аутоиммунные заболевания, тромбозы и тромбоэмболии, сердечно-сосудистые заболевания, психические и неврологические расстройства [19, 20].

За счет своего цитопатического действия на клетку-хозяина SARS-CoV-2 вызывает ее лизис (особенно в остром периоде заболевания), массивный апоптоз и некроз эпителиальных и эндотелиальных клеток, вызывая тем самым их гиперэкспрессию и гиперсекрецию многих цитокинов. исследований, сам вирус SARS-CoV-2 увеличивает секрецию провоспалительных цитокинов и ингибирует секрецию противовоспалительных цитокинов [21, 22].

Материал и методы. Для клинических исследований проведен в течение 2021-2023 гг., было взято 98 больных с асептическим некрозом головки бедренной кости после острого периода заболевания COVID-19, находившихся на лечении в отделении взрослой ортопедии «Республиканский специализированный травматолого-ортопедический научно-практический медицинский центр».

У больных болезни АНГБК определяли по данным рентгенографии, МРТ, денситометрии и УЗИ. Согласно ему, 5,1% (n=5) от общего числа больных (n=98) имели двустороннее АНГБК 1-2 стадии, 14,3% (n=14) - двустороннее АНГБК 2-3 стадии, 7, В 14% (n=7) односторонняя АНГБК 3-4 стадии, в 69,4% (n=68) двусторонняя АНГБК 3-4 стадии и в 4,1% (n=4) двусторонняя АНГБК 4-5 стадии. Учитывая, что негативные привычки, в частности злоупотребление алкоголем и курение, признаются факторами риска развития асептического некроза кости, основная группа больных (98 человек) была перегруппирована, из них 48 хронических курильщиков алкогольно-табачные изделия - первая группа и 50 больных не употребляющие алкоголь и не курящие - во вторую группу. В качестве контрольной группы были отобраны 96 условно здоровых пациентов, перенесших COVID-19 в анамнезе, но у которых не развился АНГБК. Полиморфизмы F2 гени G20210A (rs1799963), F5 гени G1691A (rs6025) ва VDR гени BSML (rs1544410) выявлены однонуклеотидный полиморфизм с помощью полимеразной цепной реакции в амплификаторе DT-Lite 48 с использованием реагентов. технология ДНК (Россия). Кроме того, принимая во внимание, что злоупотребление кортикостероидными препаратами является важным фактором риска развития АНГБК, ассоциированного с COVID-19, было изучено суммарное количество дексаметазона, принимаемого в острый период заболевания COVID-19 у общих

пациентов.

Статистическая обработка результатов исследования. Критерий χ^2 использовали для оценки генотипов и сравнения распределения генотипов и аллелей с учетом равновесия Харди-Вайнберга. Если для подтверждения наличия предрасположенности к изучаемой патологии через ассоциацию аллелей и генотипов использовали критерий χ^2 , то патогенетическую значимость аллелей и генотипов при изучаемом заболевании подтверждали отношением относительного риска (RR) и отношением шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI:). Уровень $p < 0,05$ считался статистически значимым. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.1 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было 98 связанных с COVID-19 АНГБК - основная группа и 96 здоровых лиц, перенесших COVID-19, но не имевших А - контрольная группа с rs1799963, rs6025 и rs1544410 одноточечные полиморфизмы (SNP), такие как молекулярно-генетическое тестирование, показали распределение аллелей и генотипов, как показано в таблице 1.

Таблица 1

Распределение различных полиморфизмов генов (SNP) по аллелям и генотипам в основной и контрольной группах.

Полиморфизмы	Основная группа					Контрольная группа				
	Аллели		Генотипы			Аллели		Генотипы		
	Дикий аллель (%)	Минорный аллель (%)	Гомозиготный дикий тип (%)	Гетерозиготный тип (%)	Гомозиготный недикий тип (%)	Дикий аллель (%)	Минорный аллель (%)	Гомозиготный дикий тип (%)	Гетерозиготный тип (%)	Гомозиготный недикий тип (%)
F2 rs1799963	99,0	1,0	97,9	2,0	0,0	99,5	0,5	99,0	1,0	0,0
F5 6025	96,4	3,6	92,8	7,1	0,0	99,0	1,0	97,9	2,1	0,0
VDR rs1544410	79,0	21,0	62,2	33,6	4,0	76,6	23,4	59,4	34,4	6,2

При анализе данных, представленных в таблице 1, результаты полиморфизмов, выявленных в основной и контрольной группах, были проверены по закону Харди-Вайнберга с целью проверки соответствия распределения аллелей на популяционном уровне. А по результатам, полученным в основной и контрольной группах, не было достоверного отклонения от ожидаемых или наблюдаемых эмпирических или теоретических результатов по всем выявленным полиморфизмам ($\chi^2 < 3,85$, $p > 0,05$) (см. табл. 2 и 3). Это показывает, что полученные в ходе исследования результаты нарушают закон Харди-Вайнберга.

Патогенетическое значение генетических маркеров. Кроме того, при изучении результатов полиморфизма G1691A гена F5 частота дикого аллеля и минорного аллеля

статистически значимо не отличалась в основной и контрольной группах (соответственно, G - аллель 96,4% и 9,9%; A - аллель 3,6). % и 1,0%, $\chi^2=2,7$, $p=0,1$). Аналогично результатам распределения генотипов гомозиготный гомозиготный генотип дикого типа снижал риск развития заболевания на 70% по отношению шансов (OR=0,3; 95%CI: 0,06 - 1,24), а гетерозиготный генотип снижал риск развития заболевания на 70% (OR=0,3; 95%CI: 0,06–1,24). не показывают достоверной связи между недиким генотипом и заболеванием ($\chi^2>3,85$, $p<0,05$) (таблица 4).

Таблица 2

Результаты тестирования различных полиморфизмов генов в основной группе по закону Харди-Вайнберга.

Тип полиморфизма	Основная группа						χ ²	р-значение
	Наблюдаемый			Ожидаемый				
	Гомозиготный тип (%)	Гетерозигота	Гомозиготный недикий тип	Гомозиготный тип	Гетерозигота	Гомозиготный недикий тип		
F2 rs1799963	0,98	0,02	0,0	0,98	0,019	0,01	0,01	0,99
F5 6025	0,93	0,07	0,0	0,93	0,07	0,0	0,13	0,681
VDR rs1544410	0,62	0,34	0,04	0,63	0,33	0,04	0,03	0,825

Подсказка: df=1.

Таблица 3

Результаты тестирования различных полиморфизмов генов в контрольной группе по закону Харди-Вайнберга.

Тип полиморфизма	Контрольная группа						χ ²	р-значение
	Наблюдаемый			Ожидаемый				
	Гомозиготный тип	Гетерозигота	Гомозиготный недикий тип	Гомозиготный тип	Гетерозигота	Гомозиготный недикий тип		
F2 rs1799963	0,99	0,01	0,0	0,99	0,01	0,0	0,00	0,99
F5 6025	0,98	0,02	0,0	0,98	0,02	0,0	0,01	0,876
VDR rs1544410	0,59	0,34	0,06	0,59	0,36	0,05	0,17	0,648

Подсказка: df=1.

Таблица 4

Распространение и патогенетическое значение полиморфизма G1691A гена F5 в основной и контрольной группах.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Основная группа		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	189	96,4	190	99,0	2,7	p = 0,10	1,0	0,48 - 1,99	0,3	0,06 - 1,26
A	7	3,6	2	1,0	2,7	p = 0,10	1,0	0,09 - 11,35	3,5	0,79 - 15,61
G/G	91	92,9	94	97,9	2,8	p = 0,10	0,9	0,45 - 1,99	0,3	0,06 - 1,24
G/A	7	7,1	2	2,1	2,8	p = 0,10	3,4	1,63 - 7,2	3,6	0,8 - 16,26

Аналогично, в группе больных с негативными привычками частота диких и минорных аллелей статистически значимо не различалась в основной и контрольной группах (соответственно, аллель G - 97,9% и 99,0%, 2,1% и аллель A - 1,0). %, $\chi^2=0,05$, p=0,5), соответственно, не выявлено статистически значимой связи в развитии заболевания АНГБК, ассоциированного с COVID-19, у пациентов с дикими гомозиготными и гетерозиготными генотипами ($\chi^2 < 3,85$, p > 0,05).

Таблица 5

Пациенты с негативными привычками в основной группе и в контрольной группе Ген F5 G1691A распространение и патогенетическое значение полиморфизма.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Пьющий и курящий		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	94	97,9	190	99,0	0,5	p = 0,50	1,0	0,14 - 6,94	0,5	0,07 - 3,43
A	2	2,1	2	1,0	0,5	p = 0,50	1,0	0,15 - 6,94	2,0	0,29 - 14,02
G/G	46	95,8	94	97,9	0,5	p = 0,50	1,0	0,14 - 7,06	0,5	0,07 - 3,45
G/A	2	4,2	2	2,1	0,5	p = 0,50	2,0	0,28 - 14,42	2,0	0,29 - 14,41

Интересно, что полиморфизм G1691A гена F5 был проанализирован при изучении результатов группы больных без вредных привычек. Соответственно, у пациентов с вредными привычками наблюдалась статистически значимая связь между аллелем G дикого типа и генотипами G/G дикого типа и развитием АНГБК, связанного с COVID-19 (OR=0,2, 95% CI: 0,04- 0,9 и OR =0,2, 95%CI: 0,04 - 0,88, $\chi^2=4,4$, p=0,05,) оказывает защитное действие, с другой стороны, у носителей минорного аллеля A и генотипа G/A вероятность развития заболевания статистически значимо увеличивается (соответственно, OR=5,0, 95%CI: 1,11- 22,48 и OR=5,2, 95%CI: 1,14-23,99, $\chi^2=6,1$, p=0,03). Это означает, что корреляция между минорным аллелем полиморфизма G1691A гена F5 - G и гетерозиготным генотипом - A/G и

заболеванием АНГБК, связанным с COVID-19, была статистически значимой только в группе пациентов без негативных привычек ($\chi^2 > 3,85; p < 0,05$), что указывает на то, что полиморфизм G1691A гена F5 может независимо (по сравнению с негативными привычками) статистически значимо повышать риск развития АНГБК, связанного с COVID-19 (см. Таблицу 6).

Таблица 6

Пациенты без вредных привычек в основной группе и в контрольной группе. Ген F5 G1691A. Распространение и патогенетическое значение полиморфизма.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Непьющий и некурящий		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	95	95,0	190	99,0	4,4	p = 0,05	1,0	0,36 - 2,54	0,2	0,04 - 0,9
A	5	5,0	2	1,0	4,4	p = 0,05	1,0	0,1 - 10,4	5,0	1,11 - 22,48
G/G	45	90,0	94	97,9	4,5	p = 0,05	0,9	0,33 - 2,58	0,2	0,04 - 0,88
G/A	5	10,0	2	2,1	4,5	p = 0,05	4,8	1,71 - 13,47	5,2	1,14 - 23,99

В типе полиморфизма G20210A (rs1799963) гена F2 минорный аллель исключал небольшой процент в основной и контрольной группах, а субъектов с гомозиготным диким генотипом (A/A) выявлено не было. Хотя минорный аллель - A выявлялся в большей степени в основной группе, чем в группе контроля, его ассоциация с АНГБК, ассоциированными с COVID-19, не была статистически значимой ($\chi^2 < 3,85, P > 0,05$). Точно так же по отношению шансов (OR) гомозиготного генотипа G/G и гетерозиготного генотипа G/A дикого типа показало защитную и индуцирующую роль в развитии заболевания соответственно (OR=0,5; 95% CI: 0,045-5,66 и OR=1,98; 95% CI: 0,176-22,19), патогенетическая значимость этих генотипов не была статистически значимой ($\chi^2 < 3,85, p > 0,05$) (см. Таблица 7).

Таблица 7

Распространение и патогенетическое значение полиморфизма G20210A гена F2 в основной и контрольной группах.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Основная группа		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	194	99	191	99,5	0,32	0,575	0,76	0,337-1,693	0,51	0,046-5,65
A	2	1	1	0,5	0,32	0,575	1,32	0,591-2,96	1,97	0,177-21,89
G/G	96	98	95	99,0	0,31	0,573	0,75	0,335-1,69	0,50	0,045-5,66
G/A	2	2,0	1	1,0	0,31	0,573	1,33	0,589-2,99	1,98	0,176-22,19

Аналогично, в группе больных с негативными привычками частота диких и минорных аллелей не различалась между основной и контрольной группами ($\chi^2 = 0,05, p = 0,48$), согласно которому не было обнаружено статистически значимой связи в развитии заболевания АНГБК, связанного с COVID-19, у пациентов с гомозиготным и гетерозиготным генотипами дикого типа ($\chi^2 = 0,5, p = 0,48$) (таблица 8).

При сравнении результатов типа полиморфизма G20210A (rs1799963) гена F2 между группой больных без вредных привычек и контрольной группой, хотя минорный аллель –

А выявлялся чаще в основной группе, чем в контрольной группе, его ассоциация с заболеванием АНГБК, ассоциированным с COVID-19, не было статистически значимым ($\chi^2 < 3,85$, $p > 0,05$). Точно так же, по отношению шансов (OR) гомозиготного G/G и гетерозиготного генотипа G/A дикого типа показало защитную и индуцирующую роль в развитии заболевания соответственно (OR=0,25; 95% CI: 0,023-2,86 и OR =3,95; 95%CI: 0,022-2,85), патогенная значимость указанных генотипов не была статистически достоверной ($\chi^2 < 3,85$, $p > 0,05$) (см. таблица 9).

Таблица 8

Распространение и патогенетическое значение полиморфизма G20210A гена F2 у больных с негативными привычками в основной и контрольной группах.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Пьющий и курящий		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	96	100	191	99,5	0,50	0,48	-	-	-	-
A	0	0,0	1	0,5	0,50	0,48	-	-	-	-
G/G	48	100	95	99,0	0,50	0,48	-	-	-	-
G/A	0	0,0	1	1,0	0,50	0,48	-	-	-	-

Таблица 9

Распространение и патогенетическое значение полиморфизма G20210A гена F2 у больных без вредных привычек в основной и контрольной группах.

Аллели и генотипы	Количество аллелей и генотипов				χ^2	p	RR	95% CI	OR	95% CI
	Непьющий и некурящий		Контрольная группа							
	n	%	n	%						
G	98	98,0	191	99,5	1,4	0,23	0,51	0,225-1,15	0,25	0,023-2,86
A	2	2,0	1	0,5	1,4	0,23	1,96	0,87-4,44	3,89	0,349-43,5
G/G	48	96,0	95	99,0	1,43	0,23	0,50	0,219-1,16	0,25	0,022-2,85
G/A	2	4,0	1	1,0	1,43	0,23	1,98	0,86-4,56	3,95	0,35-44,76

Фактор V (F5) каскада коагуляции способствует активации протромбина, катализируемой фактором X. Домен A2 фактора V инактивируется протеолитическим расщеплением комплекса активного протеина C (APC)/белок S. Мутация фактора V Лейдена вызывает одноточечный полиморфизм в гене F5, заменяющий глутамин аргинином в положении 506 белка. В результате эта мутация изменяет конформацию домена A2, что приводит к снижению ингибирования APC и фенотипу тромбофилии [40].

Точно так же протромбин (кодируемый геном фактора II – F2) является предшественником тромбина и играет решающую роль в образовании фибрина. Также протромбин обеспечивает нормальное функционирование системы гемостаза, регулируя процесс свертывания крови за счет активации факторов свертывания крови, в частности, за счет активации факторов V, VIII и XIII, и тромбоцитов, а также за счет активации естественных антикоагулянтов, таких как протеин S и протеин C.

Согласно проведенным исследованиям было высказано предположение, что

одноточечный полиморфизм G20210A в гене протромбина (F2) может повышать уровень протромбина и, следовательно, повышать риск артериального и венозного тромбоза. Мутация гена F2 может изменить транскрипцию гена протромбина, что приведет к увеличению продукции тромбина, ключевого фактора свертывания крови [43]. У представителей европеоидной расы протромбин G20210A является одним из частых наследственных тромбофилических заболеваний с популяционным распределением минорного аллеля 2-3% [44]. При наличии мутации протромбина G20210A риск развития венозного тромбоза увеличивается в 2-3 раза [45]. Wahlander K et al также сообщили, что мутации гена протромбина G20210A могут быть потенциальными факторами риска развития венозного тромбоза после операции по замене тазобедренного или коленного сустава [46]. Таким образом, протромбин G20210A может увеличить риск тромбоза в результате чрезмерного количества факторов свертывания крови. Этот риск может быть особенно увеличен при воздействии факторов окружающей среды, в частности гиперергического воспаления, вызванного COVID-19.

Выводы. Среди изученных в ходе исследования полиморфизмов статистически достоверными являются полиморфизм G1691A гена F5 со статистически значимой положительной ассоциацией с развитием заболевания АНГБК, связанного с COVID-19, так как минорный - аллель А и гетерозиготный - генотип G/A, независимо от негативных привычек было обнаружено, что они увеличивают вероятность заболевания, соответственно 5,0 раз (OR=5,0;95% CI:1.11 - 22.48, $\chi^2=4,4$, $p=0,05$) и 5,2 раза (OR=5,2;95% CI: 1.14 - 23.99, $\chi^2=4,5$, $p=0,05$). Другие типы полиморфизмов (F2 G20210A – rs1799963 и VDR Bsml – rs1544410) не было обнаружено статистически значимой положительной связи между развитием АНГБК, связанным с COVID-19 ($\chi^2<3,85$, $p>0,05$). Таким образом, у лиц с минорным аллелем полиморфизма G1691A гена F5 вероятность развития АНГБК выше, чем у лиц, не имеющих такого аллеля, что требует специальных дополнительных профилактических мероприятий для предотвращения развития у них заболевания АНГБК.

Использованная литература:

1. Aaron RK, Gray R. Osteonecrosis: etiology, natural history, pathophysiology, and diagnosis. In: Callaghan JJ, Rosenberg AG, Rubash HE, editors. The adult hip. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 465–76
2. Atsumi T. Bone arteriography of the femoral head of humans in normal and pathological conditions. In: Schoutens A et al., editors. Bone circulation and vascularization in normal and pathological conditions. US: Springer; 1993. p. 293–9.
3. Choi HR, Steinberg ME, E YC: Osteonecrosis of the femoral head: Diagnosis and classification systems. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2015;8:210-220.
4. Cui Q, Botchwey E. Treatment of precollapse osteonecrosis using stem cells and growth factors. *Clin Orthop Relat Res* 2011;469:2665–9.
5. Gou WL, Lu Q, Wang X, Wang Y, Peng J, Lu SB. Key pathway to prevent the collapse of femoral head in osteonecrosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(15):2766–2774.
6. Guerado E, Caso E: The physiopathology of avascular necrosis of the femoral head: An update. *Injury* 2016;47:S16-S26.
7. Herrmann M, et al. Increased osteoclast activity in the presence of increased homocysteine concentrations. *Clin. Chem*. 2005;51:2348–2353. doi: 10.1373/clinchem.2005.053363.

8. James J, Steijn-Myagkaya GL. Death of osteocytes. Electron microscopy after in vitro ischaemia. *J Bone Joint Surg (Br)* 1986;68(4):620–4.
9. Jiang Y, Rubin L, Peng T, et al. Cytokine storm in COVID-19: from viral infection to immune responses, diagnosis and therapy. *Int J Biol Sci.* 2022;18(2):459–472. Published 2022 Jan 1. doi:10.7150/ijbs.59272
10. Jiang Y, Rubin L, Peng T, et al. Cytokine storm in COVID-19: from viral infection to immune responses, diagnosis and therapy. *Int J Biol Sci.* 2022;18(2):459–472. Published 2022 Jan 1. doi:10.7150/ijbs.59272
11. Kenzora JE GM, et al. Osteonecrosis. In: Kelly WN HE, Ruddy S, et al., editors. *Textbook of rheumatology*. Philadelphia: WB Saunders; 1981. pp. 1755–82.
12. Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2005;3:1646–1654. doi: 10.1111/j.1538-7836.20
13. Matsuo K et al. Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 1988;234:115–23
14. Mont MA, Pivec R, Banerjee S, Issa K, Elmallah RK, Jones LC: High-dose corticosteroid use and risk of hip osteonecrosis: Meta-analysis and systematic literature review. *J Arthroplast* 2015;30:1506-1512.e5
15. Petek D, Hannouche D, Suva D. Osteonecrosis of the femoral head: pathophysiology and current concepts of treatment. *EFORT Open Rev.* 2019;4(3):85–97.
16. Shah K, Racine J, Jones L, et al. Pathophysiology and risk factors for osteonecrosis. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2015;8:201–9. 4
17. Stühlinger MC, et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation.* 2001;104:2569–2575. doi: 10.1161/hc4601.098514.
18. Zhang Q, L V J, Jin L. Role of coagulopathy in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head. *J Int Med Res.* 2018 Jun;46(6):2141-2148. doi: 10.1177/0300060517700299. Epub 2017 May 1. PMID: 28459353; PMCID: PMC6023042.