

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2023-27(1)-29

УДК: 616-005.6

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ COVID-АСОЦІЙОВАНИХ ТРОМБОЗІВ

Стойка Я. В., Некрашук О. П., Сухань Д. С., Даценко Г. В., Даценко Ю. О., Галунко Г. М., Ботаневич Є. О.
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: jarikstojka@gmail.com

Статтю отримано 17 листопада 2022 р.; прийнято до друку 26 грудня 2022 р.

Анотація. COVID-19 - вірусне інфекційне захворювання, яке набуло масштабів пандемії в 2020 році. Вірус SARS-CoV-2, який є етіологічним чинником коронавірусної хвороби, має складний механізм впливу на організм людини, викликаючи різноманітні прояви та спричиняючи ускладнення хвороби. Як відомо, важка форма коронавірусної інфекції асоціюється з грізними наслідками, серед яких основний щабель займає порушення коагуляційної системи, яке має вигляд ДВЗ-синдрому, проте його основною ознакою є тромбоз артеріальних і венозних судин. Частота виникнення тромбоемболій змушує досліджувати патогенез розвитку даного процесу задля зменшення кількості випадків. Проте, чіткої думки щодо патогенезу такого тромбозу досі немає. Тому метою даного огляду було проаналізувати найбільш імовірні механізми розвитку тромбозу вен та/або артерій, асоційованого з коронавірусною хворобою. У ході дослідження було проаналізовано 64 інформаційні джерела, вилучені з баз даних PubMed, Web of Science, Google Scholar, Elsevier. На підставі ретельного аналізу інформації було виявлено такі основні ланки COVID-асоційованого тромбозу: безпосередня гіперактивація кров'яних пластинок, що веде шляхом участі власних поверхневих молекул (P-селектин, CD40L тощо), до активації агрегації та адгезії тромбоцитів; ACE2 - опосередкована активація клітин та ендотеліальна дисфункція, що разом мають властивість до стимуляції тромбоутворення; активація процесу NETозу, MAPK-шляху, Toll-like рецепторів та системи ферментів Nox2, що також шляхом каскаду різних реакцій, які описані нижче, спричиняють тромбози. Ми зрозуміли, що ці декілька патогенетичних ланцюгів можуть працювати відносно окремо, проте складність в описанні розвитку тромботичної хвороби, спричиненої вірусом SARS-CoV-2, полягає в тому, що дані аспекти патогенезу тісно пов'язані та переплетені між собою на різних ланках, утворюючи як прямі та зворотні зв'язки, так і хибні кола. Отримані структуровані дані можуть слугувати в якості підґрунтя для подальших оригінальних досліджень, що дозволить розробити таргетну терапію для лікування та профілактики виникнення постковідних тромбозів, направлену на змальовані молекулярно-генетичні аспекти.

Ключові слова: COVID-19, ACE2, тромбоз, патогенез.

Вступ

SARS-CoV-2 - це третій зоонозний представник родини коронавірусів, що за останні два десятиліття спричинив смертельну інфекцію, яка у 2020 році розвинулась у пандемію [43].

SARS-Cov-2 є вірусом, що складається з позитивної нитки РНК, нуклеокапсиду та оболонки [28]. Віріон даного вірусу один із найбільших, що складається з чотирьох білків: S (шип), E (оболонка), M (мембрана) і N (нуклеокапсид) [59]. З цих протеїнів саме S-білок є найпатогеннішим, оскільки спричиняє зв'язування коронавірусу з рецепторами ангіотензин-перетворюючого ферменту (ACE2). Далі він, використовуючи трансмембранну серинову протеазу 2 (TMPRSS2), здійснює праймування та інфікування клітини-хазяїна [14]. COVID-19 викликає патологічні зміни в багатьох органах і системах, що обумовлено розташуванням ACE2, а саме у легенях, нирках, серці, печінці, кишківнику, ЦНС, жировій тканині, епітелії, тощо [20]. На додаток до захворювання легень, досить важкими змінами для хворих на коронавірусну хворобу чи реконвалесцентів є тромбоутворення. Відповідно до європейських статистичних даних, близько 30% пацієнтів, які хворіють чи уже перехворіли на коронавірус, мають підвищену активність тромботичного процесу [25]. С. Wu et al. (2021) у своєму масштабному дослідженні підтвердили, що 31% пацієнтів з критичним пере-

бігом COVID-19 мали супутній тромбоз судин. Водночас, відсоток пацієнтів з тромбоутворенням без супутнього інфекційного захворювання становить всього 1,3 [58]. Враховуючи, що ризик тромбозів при коронавірусній інфекції зростає в десятки разів, постає проблема нечіткого розуміння механізмів такого стану. Тому метою даного огляду став аналіз, характеристика та узагальнення можливих патогенетичних аспектів тромбоутворення при COVID-19.

Матеріали та методи

У ході дослідження було проаналізовано 64 інформаційні джерела, вилучені з баз даних PubMed, Web of Science, Google Scholar, Elsevier. Вся знайдена інформація була піддана ретельному аналізу, оброблена та в узагальненому вигляді викладена в даному огляді.

Результати. Обговорення

Одним із найважливіших шляхів тромбоутворення є взаємодія коронавірусу з рецепторами ACE2. Цей рецептор є білком, який кодується однойменним геном. Ген ACE2 локалізується на хромосомі 15 [3]. Його експресія є поширеною в організмі людини, саме тому відповідний рецептор міститься в багатьох тканинах організму. Рецептор ACE2 належить до сімейства ангіотензин-

перетворюючих ферментів дипептидилкарбоксипептидаз і каталізує перетворення ангіотензину I в ангіотензин 1-9, ангіотензину II (AngII) в ангіотензин 1-7. Проте при коронавірусній інфекції знижується експресія гена і відповідного білка, що веде до різних клінічних проявів [19].

Відповідно до роботи S. Zhang et al. (2020) тромбоцити людини також експресують ACE2 і TMPRSS2, що дає змогу говорити про пряму активацію тромбоцитів при COVID-19 [63]. Younes Zaid et al. (2020) у своїй праці підтвердили, що COVID-19 безпосередньо через ACE2 тромбоцитів взаємодіє з останніми за допомогою серинових протеаз. РНК вірусу було виявлено у пацієнтів з коронавірусною хворобою різного ступеня важкості [61]. Bhanu Kanth Manne et al. (2020) у проспективному клінічному дослідженні вивчали активність тромбоцитів за допомогою експресії поверхневого P-селектину та інтерферон-індукуючого трансмембранного білка 3 (IFITM3). Обидва показники були підвищені, що свідчить про гіперактивацію тромбоцитів у пацієнтів з коронавірусом. Такі гіперактивні тромбоцити мали посилену здатність до адгезії та агрегації, що врешті-решт призводить до утворення тромбів [32]. Активація тромбоцитів була підтверджена і в роботах інших науковців. Зокрема, Si Zhang et al. (2020) та Donato Gemmati et al. (2020) у окремих дослідженнях вказували на пряму активацію тромбоцитів через ACE2, і також наголошували на важливій ролі TMPRSS2, що вкрай необхідна SARS-Cov-2

для інтерналізації через клітинну мембрану та інфікування клітин хазяїна. Таке інфікування тромбоцитів призводить до вивільнення фактора зсідання крові та секреції прозапальних цитокінів, які мають протромботичну активність [18, 63].

Також при гіперактивації тромбоцитів внаслідок коронавірусної інфекції характерною ознакою є зниження експресії ACE2 з різними наслідками, які імітують дивергенцію шляхів впливу. Однією ланкою розвитку прийнято вважати утворення тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів, що спричиняє вивільнення лейкоцитарного тканинного фактору (TF) [23]. Такі результати були підтверджені у окремих працях Dingxin Pan et al. (2015) та E Lindmark et al., (2000), які додатково вказували, що при гіперактивації тромбоцитів, експресія ACE2 знижується, а тромбоцитарних глікопротеїнів Gr IIb/IIIa підвищується і, як наслідок, підвищується хемотаксис лейкоцитів та активація поверхневого P-селектину та CD40L (ліганд CD40), які зумовлюють секрецію лейкоцитарного TF [30, 42]. За даними дослідження В. Osterud (2012) єдиними клітинами крові, що містять TF є моноцити, тому його доцільно вважати саме моноцитарним [41].

Іншою ланкою зниженої експресії ACE2 є інгібування конвертування ангіотензину II в ангіотензин 1-7 та накопичення AngII. Прогресуюче зростання вмісту даної речовини в сироватці крові є небезпечним, оскільки AngII бере участь в активації сімейства ферментів NADPH оксидаз (Nox) і надмірного виділення активних форм кисню (АФК), що тягне за собою подальшу активацію тромбоцитів, утворюючи хибне коло (рис. 1) [11, 57].

Проте, на даний момент недостатньо інформації щодо даних аспектів патогенезу. На думку деяких вчених, наступною задачею є зрозуміти чи справді тромбоцити виступають у ролі клітин-мішеней при коронавірусній інфекції. Ursula J. Buchholz et al. (2004) вважають можливим те, що тромбоцити здатні поглинати РНК SARS-CoV-2 з циркулюючої крові [6].

Як уже зазначалось, патогенез COVID-19-асоційова-

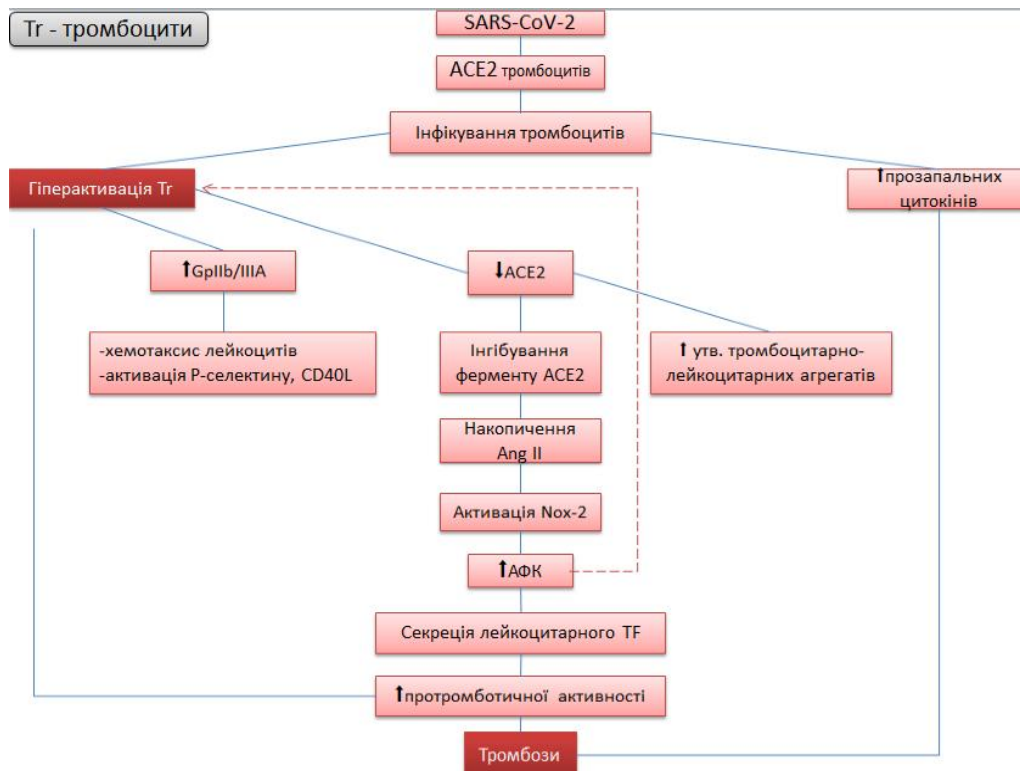


Рис. 1. Механізм гіперактивації тромбоцитів.

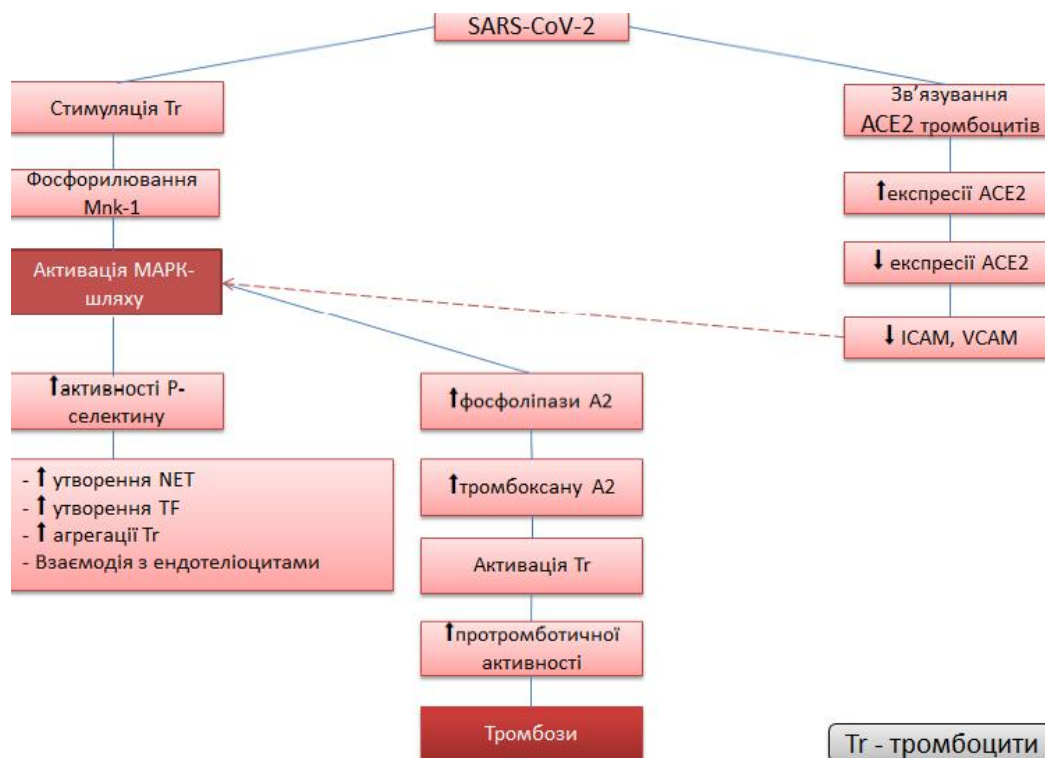


Рис. 2. Активація MAPK-шляху.

ного тромбозу дуже складний та включає в себе багато складових, з яких можна виділити кілька основних. Вважається, що одним з провідних механізмів тромбоутворення є формування та вивільнення тромбоцитарно-нейтрофільних / нейтрофільних позаклітинних пасток - NETs (Neutrophil extracellular traps). У ході даного процесу нейтрофіли вивільняють позаклітинну ДНК [2]. NETs були виявлені і вперше дослідженні близько двох десятиків років тому, і спершу вважалися механізмом захисту організму виключно від бактерій [5]. Однак, зараз відомо, що нейтрофільні пастки загалом є захисним фактором від патогенних чинників, у тому числі від вірусів [55]. Противірусна активність пасток пояснюється прямою та опосередкованою стимуляцією вірусами процесу NETозу. Деякі науковці вважають, що віруси ідентифікуються спеціальними рецепторами розпізнавання на ендосомах нейтрофілів (PRR), а стимульовані нейтрофіли виділяють пастки [46].

Такі NETs, що виділились нейтрофілами, являють собою тривимірні сітки з деконденсованого хроматину разом з гістонами та антипатогенними факторами, які виділяються у відповідь на стимуляцію нейтрофілів. Патогенні віруси, зокрема респіраторні інфекції, викликають процес NETозу [29, 47]. Що стосується опосередкованої активації, то вважається, що вона може здійснюватися за допомогою тромбоцитів: молекула CD41 на мембрані активованих кров'яних пластинок взаємодіє з CD11b та інтегрином $\beta 2$ [9]. Таким чином можна говорити про процес імунотромбозу, який характеризується

неконтрольованістю [16]. Виходячи з аналізу інформації можна судити про те, чи є NETs зв'язуючою ланкою між тромбозом і запальними реакціями. Інфекція SARS-CoV-2 в організмі людини зумовлює виникнення запалення та секреції прозапальних цитокінів, серед яких IL-8 з протромботичною активністю, який є одним з факторів індукції NETозу [5, 51]. Власне нейтрофільна пастка слугує каркасом для адгезії тромбоцитів, яка відбувається при участі додаткових факторів, до яких,

можливо, належать фактор Віллебранда (фФВ), фібринектин чи електростатична взаємодія з гістонами [56]. Kimberly Martinod, Denisa D. Wagner (2014) вважають, що для активації та утворення NET потрібні тромбоцити [35]. На користь даної теорії свідчать дослідження факторів тромбоцитів у пацієнтів з коронавірусною інфекцією. Зокрема, E. A. Middleton et al. (2020) у своїй праці підтвердили високий рівень фактора тромбоцитів PF4 та RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) чи хемокінового ліганду, які мають властивість індукувати процес утворення нейтрофільних позаклітинних пасток [37]. Panagiotis Skendros et al. (2020) у дослідженні підтвердили, що взаємодія тромбоцитів з нейтрофілами є ще одним аспектом тромбоутворення при COVID-19. Утворення нейтрофільних позаклітинних пасток у кінцевому рахунку призводить до активації тканинного фактора моноцитів, який є інгібітором протеази коагуляції FVII/VIII і конвертування FX в FXa [31, 49]. Marisa Dolhnikoff et al. (2020) у своїй роботі при аутопсії померлих від коронавірусної інфекції виявили наявність тромбоцитів, лейкоцитів і нейтрофільних пасток у легенях і кровоносних судинах, що також дає змогу думати про участь NET у процесі імунотромбозу [12].

Третьою ланкою патогенезу тромбозу, асоційованого з коронавірусною інфекцією, можна назвати активацію шляху мітоген-активуючих протеїназ MAPK. Каскад сигнальних реакцій MAPK є регулятором широкого спектру клітинних процесів проліферації, диференцію-

вання та відповіді на патогенні чинники [22]. Серед трьох основних MAPK-взаємодіючих кіназ (Mnk) сигнального шляху, саме Mnk-1 експресується в мегакаріоцитах і тромбоцитах. Стимуляція тромбоцитів (включно коронавірусом), призводить до активації фосфорилування нижче розташованої мішені MAPK-шляху, що веде до активування процесу трансляції мРНК [33]. Ймовірно, саме таким шляхом можлива активація даного каскаду ферментів. Проте, Francesco Violi et al. (2021) у своєму дослідженні вказують на те, що постійно підвищена регуляторна здатність MAPK має відношення до активації тромбоцитів через підвищення утворення фосфоліпази A2 і відповідно тромбоксану [53]. Bhanu Kanth Manne et al. (2018) у роботі мали схожі результати - було виявлено, що у пацієнтів з коронавірусною інфекцією підвищується рівень саме цитозольної фосфоліпази A2 і відповідно тромбоксану A2. Таким чином, активація MAPK-шляху веде до агрегації тромбоцитів [34]. Panagiotis Flevaris et al. (2009) припустили, що підвищена функціональність каскаду ферментів, окрім збільшення рівня похідного арахідонової кислоти, призводить до підвищеної експресії P-селектину при COVID-19, що також має вплив на тромбоутворення [15].

Як уже зазначалося, SARS-CoV-2 зв'язується з рецепторами ACE2 тромбоцитів. Виявляється, що вірус спочатку викликає підвищену, а згодом знижену експресію ACE2, що тягне за собою негативну експресію ICAM-1 (молекула міжклітинної адгезії-1), VCAM-1 (адгезія судинних клітин) і, як наслідок, активацію фосфорилування MAPK-шляху [21]. Після чого даний каскад сигнальних ферментів може безпосередньо потенціювати роль SARS-CoV-2 у активації тромбоцитів, що призводить до підвищеної їх агрегації та утворення тромбоцитарно-нейтрофільних позаклітинних пасток (рис. 2) [63].

Крім ACE2 рецепторів, тромбоцити експресують на поверхні своєї мембрани TLR молекули (Toll-like receptors), які вкладають значну роль у розвиток запальних змін. Тому цікавим визначається вплив даних молекул на тромбоутворення при коронавірусній інфекції [48]. O. Garraud et al. (2010) у своїй праці вказали на те, що роль даних молекул у запаленні полягає в тому, що тромбоцити отримують здатність зв'язувати інфекційні агенти та подавати сигнали для секреції хемокінів і цитокінів [17]. SARS-CoV-2, проникаючи в організм, також активує TLR і відповідно індукує процес утворення нейтрофільних позаклітинних пасток [64]. Досить цікавим є те, що коронавірус стимулює тільки дві молекули рецепторів з цілого сімейства: TLR-4 і TLR-7. Дані про роль цих рецепторів у розвитку тромбоутворення різняться, тому вважаємо доцільним навести всі теорії.

За однією з них, TLR-4 володіє високою афінністю до Spike-білка SARS-CoV-2, який після зв'язування з патогеном набуває великої прозапальної активності [8]. Саме ця прозапальна дія молекули призводить до розвитку імунного запалення, яке активує процес тромбозу че-

рез вплив інтерлейкінів, особливо IL-6 та IL-8.

Друга теорія вказує на те, що TLR-4 є трансмембранним сигнальним рецептором, який проявляє тромбогенну активність через активацію каскаду MAPK [60]. Інші ж дані свідчать про те, що TLR-4 є невід'ємним чинником вазоконстрикції і збільшення ймовірності тромбозу, який пов'язаний з інфекцією [45].

TLR-7 також є досить активною молекулою, з якою може взаємодіяти коронавірус. M. Kourepova et al. (2015) у своєму дослідженні виявили, що активація TLR-7 призводить до каскаду сигнальних механізмів, які ведуть до імунологічного запалення та активації тромбоцитів [26]. Ці дані були підтверджені в окремій праці, автори якої вказали, що РНК SARS-CoV-2 виявляється в ендосомальних компартментах тромбоцитів, що в свою чергу веде до активації тромбоцитів через згаданий механізм. Також вважається, що TLR при інфікуванні коронавірусом спричиняє дегрануляцію тромбоцитів і запускає тромбоутворення [27].

Проте, зв'язування COVID-19 з TLR може мати згубний вплив не тільки через вказані механізми. Було виявлено, що тромбоутворення може відбуватись внаслідок запущеного від TLR каскаду реакцій утворення Nox2, який є важливим чинником синтезу АФК [40, 50]. Nox2 є фагоцитарною ізоформою НАДФН-оксидази і, будучи ферментом вродженого імунітету, має прозапальну властивість і локалізується у тромбоцитах та ендотеліальних клітинах [44]. Одні автори прослідковують чіткий зв'язок між взаємодією Spike-білка коронавірусу з ACE2 та утворенням даного ферменту. Проникнення вірусного S-білка в клітину призводить до зниження експресії поверхневої ACE2, порушення деградації ангіотензину II та відповідно його накопичення, що в кінцевому етапі призводить до активації Nox2 і розвитку окисного стресу [20, 38]. Також ще однією ланкою є вплив Nox2 на регуляцію судинної дилатації шляхом інгібування оксиду азоту, а також посиленням синтезу ейкозаноїдів тромбоцитами. Така судинна дисфункція, яка розвивається разом із прямим пошкодженням ендотелію COVID-19, призводить до тромбозу [54].

Ще однією дуже важливою ланкою розвитку тромбозу при COVID-19 є ендотеліальна дисфункція. Уже не складається сумнівів, що коронавірус може вражати ендотеліальні клітини системних судин. При інфікуванні розвивається ендотеліальна дисфункція, яка тягне за собою підвищення утворення цитокінів, хемокінів, фактора фон Віллебранда та VIII системи згортання крові [62]. Взаємодія SARS-CoV-2 з ACE2 та TMPRSS-2 веде до втрати ендотелієм нормальних функцій, прокоагулянтного звуження просвіту судини, розвитку імунотромбозу та прогресування власне запалення [24]. Ендотеліальна дисфункція посідає вагомe місце в патології згортання крові за рахунок підвищеного утворення тромбіну та зниження фібринолізу, що призводить до гіперкоагуляції [52]. M. Askermann et al. (2020) у своєму дослідженні пацієнтів з коронавірусною хворобою показали

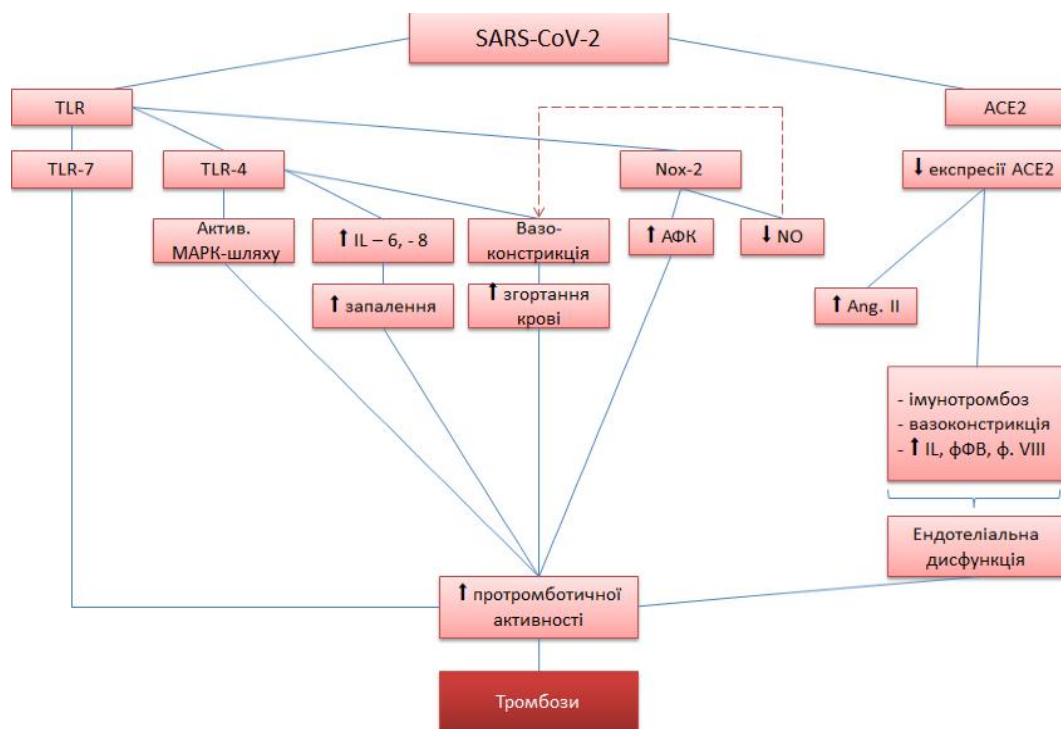


Рис. 3. Активация TLR, системи ферментів Nox2 та розвиток ендотеліальної дисфункції.

силіє агрегацію останніх і стабілізацію утворених агрегатів [36]. Окремо хочеться звернути увагу, що згідно з дослідженням Chiara Fallerini et al. (2021) гомозиготність (rs6127) гена Р-селектину у чоловіків впливає на ще більший прояв прокоагулянтної активності даної молекули у чоловіків, що можна розглядати як шлях терапії [13]. Проте детальніше вивчення генетичних особливостей та кореляція наявності поліморфізмів зі стат-

на зразках, що морфологічно пошкоджений епітелій має набряк, порушення міжклітинних взаємодій, втрату контакту з базальною мембраною та периваскулярне запалення [1]. Окреме дослідження підтвердило, що при такій морфологічній картині ендотеліальної дисфункції підвищується активність тромбоцитів, їх дегрануляція, що в кінцевому випадку призведе до адгезії тромбоцитів до стінки судини [39]. N. Cloutier et al. (2018) виявили, що показниками активності тромбоцитів у пацієнтів з COVID-19 є CD40L, PF4, серотонін, які крім того, що є маркерами, також безпосередньо впливають на мікросудинне русло (рис. 3) [10].

Ще одним цікавим для розгляду питанням є вплив Р-селектину на тромбоутворення. Ми уже згадували, що Р-селектин підвищується у пацієнтів з COVID-19 та є своєрідним маркером активності тромбоцитів, що вивчалось різними науковцями [4]. Р-селектин можна розглядати як важливий лабораторний показник, який може стати однією з ланок впливу на утворення тромбів. Р-селектин - це молекула трансмембранного білка, яка міститься у альфа-гранулах тромбоцитів та тільцях Вейбеля-Паладе ендотеліальних клітин, та після взаємодії останнього з SARS-CoV-2 виводиться на поверхню тромбоцитів [7]. Дана молекула, знаходячись на поверхні клітин, забезпечує взаємодію тромбоцитів з ендотеліоцитами; зв'язуючись з глікопротеїновими лігандами-1 Р-селектину лейкоцитів (PSGL-1), посилює утворення NET; зв'язуючись з моноцитами, посилює утворення TF моноцитів, що має протромботичну активність; взаємодіючи з сульфатами на поверхні інших тромбоцитів, по-

ттю, віком чи іншими класифікаційними ознаками, дозволить розробити ефективне молекулярно-генетичне лікування COVID-19-асоційованого тромбозу.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проаналізовано молекулярно-генетичні аспекти тромбоутворення, яке пов'язане з коронавірусною інфекцією. Основним патогенетичним шляхом можна вважати вплив COVID-19 на ген ACE2 та зумовлені цим порушення в кодуючому ферменті. Окрім вказаного шляху, вірус вмикає наступні механізми: NETоз - зв'язуюча ланка, яка пов'язує процес імунотромбозу з участю імунних клітин і тромбоцитів із запальними змінами; активує каскад ферментів MAPK-шляху, що через індукцію фосфоліпази A2 веде до підвищеної функціональної здатності тромбоцитів; підвищує експресію Toll-like рецепторів, що в декількох ключових точках зв'язує всі наведені механізми та спричиняє активацію дегрануляції тромбоцитів; збільшує активність ферменту Nox2 і таким чином веде до посилення оксидативного стресу як фактора ризику розвитку важкої форми хвороби; збільшує активність маркера активації тромбоцитів Р-селектину.

Всі вказані механізми тим чи іншим чином ведуть до пошкодження ендотелію та ендотеліальної дисфункції, яка є як наслідком, так і причиною активації тромбоутворення. Отже, подальше прицільне вивчення зв'язку вказаних патогенетичних аспектів, а також генних ефектів коронавірусу, дасть можливість покращити лікування COVID-асоційованих тромбозів.

Список посилань - References

- [1] Ackermann, M., Verleden, S. E., Kuehnel, M., Haverich, A., Welte, T., Laenger, F., ... & Jonigk, D. (2020). Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *The New England journal of medicine*, 383(2), 120-128. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432>
- [2] Barnes, B. J., Adrover, J. M., Baxter-Stoltzfus, A., Borczuk, A., Cools-Lartigue, J., Crawford, J. M., ... & Egeblad, M. (2020). Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *The Journal of experimental medicine*, 217(6), e20200652. <https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- [3] Beacon, T. H., Delcuve, G. P., & Davie, J. R. (2021). Epigenetic regulation of ACE2, the receptor of the SARS-CoV-2 virus1. *Genome*, 64(4), 386-399. <https://doi.org/10.1139/gen-2020-0124>
- [4] Blair, P., & Flaumenhaft, R. (2009). Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood reviews*, 23(4), 177-189. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2009.04.001>
- [5] Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., ... & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science (New York, N.Y.)*, 303(5663), 1532-1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- [6] Buchholz, U. J., Bukreyev, A., Yang, L., Lamirande, E. W., Murphy, B. R., Subbarao, K., & Collins, P. L. (2004). Contributions of the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus to protective immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(26), 9804-9809. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403492101>
- [7] Celi, A., Pellegrini, G., Lorenzet, R., De Blasi, A., Ready, N., ... & Furie, B. (1994). P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(19), 8767-8771. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.19.8767>
- [8] Choudhury, A., & Mukherjee, S. (2020). In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. *Journal of medical virology*, 92(10), 2105-2113. <https://doi.org/10.1002/jmv.25987>
- [9] Clark, S. R., Ma, A. C., Tavener, S. A., McDonald, B., Goodarzi, Z., Kelly, M. M., ... & Kubes, P. (2007). Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nature medicine*, 13(4), 463-469. <https://doi.org/10.1038/nm1565>
- [10] Cloutier, N., Allaëys, I., Marcoux, G., Machlus, K. R., Mailhot, B., Zufferey, A., ... & Boilard, E. (2018). Platelets release pathogenic serotonin and return to circulation after immune complex-mediated sequestration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(7), E1550-E1559. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720553115>
- [11] Ding, J., Yu, M., Jiang, J., Luo, Y., Zhang, Q., Wang, S., ... & Lu, D. (2020). Angiotensin II Decreases Endothelial Nitric Oxide Synthase Phosphorylation via AT1R Nox/ROS/PP2A Pathway. *Frontiers in physiology*, 11, 566410. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.566410>
- [12] Dolnikoff, M., Duarte-Neto, A. N., de Almeida Monteiro, R. A., da Silva, L. F. F., de Oliveira, E. P., Saldiva, P. H. N., ... & Negri, E. M. (2020). Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*, 18(6), 1517-1519. <https://doi.org/10.1111/jth.14844>
- [13] Fallerini, C., Daga, S., Benetti, E., Picchiotti, N., Zguro, K., Catapano, F., ... & Mari, F. (2021). SELP Asp603Asn and severe thrombosis in COVID-19 males. *Journal of hematology & oncology*, 14(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01136-9>
- [14] Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1282, 1-23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- [15] Flevaris, P., Li, Z., Zhang, G., Zheng, Y., Liu, J., & Du, X. (2009). Two distinct roles of mitogen-activated protein kinases in platelets and a novel Rac1-MAPK-dependent integrin outside-in retractile signaling pathway. *Blood*, 113(4), 893-901. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-155978>
- [16] Fuchs, T. A., Brill, A., Duerschmied, D., Schatzberg, D., Monestier, M., Myers, D. D., ... & Wagner, D. D. (2010). Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(36), 15880-15885. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
- [17] Garraud, O., & Cognasse, F. (2010). Platelet Toll-like receptor expression: the link between "danger" ligands and inflammation. *Inflammation & allergy drug targets*, 9(5), 322-333. <https://doi.org/10.2174/187152810793937991>
- [18] Gemmati, D., Bramanti, B., Serino, M. L., Secchiero, P., Zauli, G., & Tisato, V. (2020). COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-Chromosome in Males? *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3474. <https://doi.org/10.3390/ijms21103474>
- [19] GeneCards
- [20] Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J. C., Turner, A. J., ... & Oudit, G. Y. (2020). Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation research*, 126(10), 1456-1474. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317015>
- [21] G Grimes, J. M., & Grimes, K. V. (2020). p38 MAPK inhibition: A promising therapeutic approach for COVID-19. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 144, 63-65. <https://doi.org/10.1016/j.jmcc.2020.05.007>
- [22] Guo, Y. J., Pan, W. W., Liu, S. B., Shen, Z. F., Xu, Y., & Hu, L. L. (2020). ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis. *Experimental and therapeutic medicine*, 19(3), 1997-2007. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8454>
- [23] Hottz, E. D., Azevedo-Quintanilha, I. G., Palhinha, L., Teixeira, L., Barreto, E. A., P?o, C. R. R., ... & Bozza, P. T. (2020). Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. *Blood*, 136(11), 1330-1341. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007252>
- [24] Iba, T., Connors, J. M., & Levy, J. H. (2020). The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflammation research*, 69(12), 1181-1189. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01401-6>
- [25] Klok, F. A., Kruip, M. J. H. A., van der Meer, N. J. M., Arbous, M. S., Gommers, D. A. M. P. J., Kant, K. M., ... & Endeman, H. (2020). Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thrombosis research*, 191, 145-147. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.013>
- [26] Koupenova, M., Mick, E., Mikhalev, E., Benjamin, E. J., Tanriverdi, K., & Freedman, J. E. (2015). Sex differences in platelet toll-like receptors and their association with cardiovascular risk factors. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 35(4), 1030-1037. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304954>

- [27] Koupenova, M., Vitseva, O., MacKay, C. R., Beaulieu, L. M., Benjamin, E. J., Mick, E., ... & Freedman, J. E. (2014). Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis. *Blood*, 124(5), 791-802. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-536003>
- [28] Kumar, M., & Al Khodor, S. (2020). Pathophysiology and treatment strategies for COVID-19. *Journal of translational medicine*, 18(1), 353. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02520-8>
- [29] Li, P., Li, M., Lindberg, M. R., Kennett, M. J., Xiong, N., & Wang, Y. (2010). PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *The Journal of experimental medicine*, 207(9), 1853-1862. <https://doi.org/10.1084/jem.20100239>
- [30] Lindmark, E., Tenno, T., & Siegbahn, A. (2000). Role of platelet P-selectin and CD40 ligand in the induction of monocytic tissue factor expression. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20(10), 2322-2328. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.10.2322>
- [31] Mackman N. (2009). The role of tissue factor and factor VIIa in hemostasis. *Anesthesia and analgesia*, 108(5), 1447-1452. <https://doi.org/10.1213/ane.0b013e31819bceb1>
- [32] Manne, B. K., Denorme, F., Middleton, E. A., Portier, I., Rowley, J. W., Stubben, C., ... & Campbell, R. A. (2020). Platelet gene expression and function in patients with COVID-19. *Blood*, 136(11), 1317-1329. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007214>
- [33] Manne, B. K., Campbell, R. A., Bhatlekar, S., Ajanel, A., Denorme, F., Portier, I., ... & Rondina, M. T. (2022). MAPK-interacting kinase 1 regulates platelet production, activation, and thrombosis. *Blood*, 140(23), 2477-2489. <https://doi.org/10.1182/blood.2022015568>
- [34] Manne, B. K., Münzer, P., Badolia, R., Walker-Allgaier, B., Campbell, R. A., Middleton, E., ... & Rondina, M. T. (2018). PDK1 governs thromboxane generation and thrombosis in platelets by regulating activation of Raf1 in the MAPK pathway. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*, 16(6), 1211-1225. <https://doi.org/10.1111/jth.14005>
- [35] Martinod, K., & Wagner, D. D. (2014). Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood*, 123(18), 2768-2776. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-463646>
- [36] Merten, M., & Thiagarajan, P. (2004). P-selectin in arterial thrombosis. *Zeitschrift für Kardiologie*, 93(11), 855-863. <https://doi.org/10.1007/s00392-004-0146-5>
- [37] Middleton, E. A., He, X. Y., Denorme, F., Campbell, R. A., Ng, D., Salvatore, S. P., ... & Yost, C. C. (2020). Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*, 136(10), 1169-1179. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008>
- [38] Molitor, M., Rudi, W. S., Garlapati, V., Finger, S., Sch?ler, R., Kossmann, S., ... & Wenzel, P. (2021). Nox2+ myeloid cells drive vascular inflammation and endothelial dysfunction in heart failure after myocardial infarction via angiotensin II receptor type 1. *Cardiovascular research*, 117(1), 162-177. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa042>
- [39] Monteil, V., Kwon, H., Prado, P., Hagelkrays, A., Wimmer, R. A., Stahl, M., ... & Penninger, J. M. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*, 181(4), 905-913.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.004>
- [40] Nocella, C., Carnevale, R., Bartimoccia, S., Novo, M., Cangemi, R., Pastori, D., ... & Violi, F. (2017). Lipopolysaccharide as trigger of platelet aggregation via eicosanoid over-production. *Thrombosis and haemostasis*, 117(8), 1558-1570. <https://doi.org/10.1160/TH16-11-0857>
- [41] Osterud, B. (2012). Tissue factor/TFPI and blood cells. *Thrombosis research*, 129(3), 274-278. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2011.11.049>
- [42] Pan, D., Amison, R. T., Riffo-Vasquez, Y., Spina, D., Cleary, S. J., Wakelam, M. J., ... & Welch, H. C. (2015). P-Rex and Vav Rac-GEFs in platelets control leukocyte recruitment to sites of inflammation. *Blood*, 125(7), 1146-1158. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-07-591040>
- [43] Paules, C. I., Marston, H. D., & Fauci, A. S. (2020). Coronavirus Infections-More Than Just the Common Cold. *JAMA*, 323(8), 707-708. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.0757>
- [44] Pignatelli, P., Carnevale, R., Cangemi, R., Loffredo, L., Sanguigni, V., Stefanutti, C., ... & Violi, F. (2010). Atorvastatin inhibits gp91phox circulating levels in patients with hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 30(2), 360-367. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.198622>
- [45] Ren, M., Li, R., Luo, M., Chen, N., Deng, X., Yan, K., ... & Wu, J. (2014). Endothelial cells but not platelets are the major source of Toll-like receptor 4 in the arterial thrombosis and tissue factor expression in mice. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 307(7), R901-R907. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00324.2014>
- [46] Saitoh, T., Komano, J., Saitoh, Y., Misawa, T., Takahama, M., Kozaki, T., ... & Akira, S. (2012). Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell host & microbe*, 12(1), 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.05.015>
- [47] Schönrich, G., & Raftery, M. J. (2016). Neutrophil Extracellular Traps Go Viral. *Frontiers in immunology*, 7, 366. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00366>
- [48] Semple, J. W., Italiano, J. E., Jr, & Freedman, J. (2011). Platelets and the immune continuum. *Nature reviews. Immunology*, 11(4), 264-274. <https://doi.org/10.1038/nri2956>
- [49] Skendros, P., Mitsios, A., Chrysanthopoulou, A., Mastellos, D. C., Metallidis, S., Rafailidis, P., ... & Ritis, K. (2020). Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. *The Journal of clinical investigation*, 130(11), 6151-6157. <https://doi.org/10.1172/JCI141374>
- [50] To, E. E., Vlahos, R., Luong, R., Halls, M. L., Reading, P. C., King, P. T., ... & Selemidis, S. (2017). Endosomal NOX2 oxidase exacerbates virus pathogenicity and is a target for antiviral therapy. *Nature communications*, 8(1), 69. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00057-x>
- [51] van Aken, B. E., Reitsma, P. H., & Rosendaal, F. R. (2002). Interleukin 8 and venous thrombosis: evidence for a role of inflammation in thrombosis. *British journal of haematology*, 116(1), 173-177. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03245.x>
- [52] Vinayagam, S., & Sattu, K. (2020). SARS-CoV-2 and coagulation disorders in different organs. *Life sciences*, 260, 118431. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118431>
- [53] Violi, F., Cammisotto, V., & Pignatelli, P. (2021). Thrombosis in Covid-19 and non-Covid-19 pneumonia: role of platelets. *Platelets*, 32(8), 1009-1017. <https://doi.org/10.1080/09537104.2021.1936478>
- [54] Violi, F., Carnevale, R., Loffredo, L., Pignatelli, P., & Gallin, J. I. (2017). NADPH Oxidase-2 and Atherothrombosis: Insight From Chronic Granulomatous Disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37(2), 218-225. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308351>
- [55] Wardini, A. B., Guimaraes-Costa, A. B., Nascimento, M. T., Nadaes, N. R., Danelli, M. G., Mazur, C., ... & Pinto-da-Silva, L. H. (2010). Characterization of neutrophil extracellular traps in cats naturally infected with feline leukemia virus. *The Journal of general virology*, 91(1), 259-264. <https://doi.org/10.1099/vir.0.014613-0>
- [56] Watson, K., Gooderham, N. J., Davies, D. S., & Edwards, R. J.

- (1999). Nucleosomes bind to cell surface proteoglycans. *The Journal of biological chemistry*, 274(31), 21707-21713. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21707>
- [57] Wilkinson-Berka, J. L., Rana, I., Armani, R., & Agrotis, A. (2013). Reactive oxygen species, Nox and angiotensin II in angiogenesis: implications for retinopathy. *Clinical science* (London, England: 1979), 124(10), 597-615. <https://doi.org/10.1042/CS20120212>
- [58] Wu, C., Liu, Y., Cai, X., Zhang, W., Li, Y., & Fu, C. (2021). Prevalence of Venous Thromboembolism in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019: A Meta-Analysis. *Frontiers in medicine*, 8, 603558. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.603558>
- [59] Wu, C., Liu, Y., Yang, Y., Zhang, P., Zhong, W., Wang, Y., ... & Li, H. (2020). Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta pharmaceutica Sinica. B*, 10(5), 766-788. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008>
- [60] Yang, Y., Kim, S. C., Yu, T., Yi, Y. S., Rhee, M. H., Sung, G. H., ... & Cho, J. Y. (2014). Functional roles of p38 mitogen-activated protein kinase in macrophage-mediated inflammatory responses. *Mediators of inflammation*, 2014, 352371. <https://doi.org/10.1155/2014/352371>
- [61] Zaid, Y., Puhm, F., Allaeys, I., Naya, A., Oudghiri, M., Khalki, L., ... & Boilard, E. (2020). Platelets Can Associate with SARS-CoV-2 RNA and Are Hyperactivated in COVID-19. *Circulation research*, 127(11), 1404-1418. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317703>
- [62] Zhang, J., Tecson, K. M., & McCullough, P. A. (2020). Endothelial dysfunction contributes to COVID-19-associated vascular inflammation and coagulopathy. *Reviews in cardiovascular medicine*, 21(3), 315-319. <https://doi.org/10.31083/j.rcm.2020.03.126>
- [63] Zhang, S., Liu, Y., Wang, X., Yang, L., Li, H., Wang, Y., ... & Hu, L. (2020). SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. *Journal of hematology & oncology*, 13(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00954-7>
- [64] Zhao, Y., Kuang, M., Li, J., Zhu, L., Jia, Z., Guo, X., ... & You, F. (2021). Publisher Correction: SARS-CoV-2 spike protein interacts with and activates TLR4. *Cell research*, 31(7), 825. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00501-0>

MOLECULAR AND GENETIC ASPECTS OF THE PATHOGENESIS OF COVID-ASSOCIATED THROMBOSIS

Stoika Y. V., Nekrashchuk O. P., Sukhan D. S., Datsenko H. V., Datsenko Y. O., Galunko G. M., Botanevych Y. O.

Annotation. COVID-19 is a viral infectious disease that reached pandemic proportions in 2020. The SARS-CoV-2 virus, which is the etiological factor of the coronavirus disease, has a complex mechanism of impact on the human body, causing various manifestations and causing complications of the disease. As you know, a severe form of coronavirus infection is associated with dire consequences, among which the main step is a violation of the coagulation system, which has the appearance of CVD syndrome, but its main symptom is thrombosis of arterial and venous vessels. The frequency of occurrence of thrombocytopenia forces us to investigate the pathogenesis of the development of this process to reduce the number of cases. However, there is still no clear opinion about the pathogenesis of such thrombosis. Therefore, the purpose of this review was to analyse the most probable mechanisms of development of venous and/or arterial thrombosis associated with coronavirus disease. In the course of the study, 64 information sources were analysed, extracted from PubMed, Web of Science, Google Scholar, and Elsevier databases. At the beginning of a thorough analysis of information, the following main links of COVID-associated thrombosis were identified: direct hyperactivation of blood platelets, which leads, through the participation of their surface molecules (P-selectin, CD40L, etc.), to the activation of aggregation and adhesion of platelets; ACE2 - mediated cell activation and endothelial dysfunction, which together have the property of stimulating thrombus formation; activation of the NETosis process, the MAPK pathway, Toll-like receptors and the Nox2 enzyme system, which also through a cascade of various reactions, which are described below, cause thrombosis. We understood that these several pathogenetic chains can work relatively separately, but the difficulty in describing the development of thrombotic disease caused by the SARS-CoV-2 virus is that these aspects of pathogenesis are closely related and intertwined at different links, forming both direct and feedback loops, and vicious circles. The obtained structured data can serve as a basis for further original research, which will allow the development of targeted therapy for the treatment and prevention of post-covid thromboses, directed at the described molecular genetic aspects.

Keywords: COVID-19, ACE2, thrombosis, pathogenesis.
