

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

На правах рукописи

МАТВИЕНКО ОЛЕСЯ ЮРЬЕВНА
ПРОТРОМБОТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ОЦЕНКА
ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С
COVID-19

3.1.28 – Гематология и переливание крови

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Сидоркевич Сергей Владимирович
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
1.1 Введение.....	17
1.2 Особенности вируса SARS-CoV-2.....	18
1.3 Состояние иммунитета, развитие цитокинового шторма при COVID-19.....	20
1.4 Эндотелиальная дисфункция и активация системы гемостаза при новой коронавирусной инфекции.....	27
1.4.1 Нарушения состояния эндотелия.....	27
1.4.2 Изменения тромбоцитарного звена гемостаза.....	33
1.4.3 Микрочастицы плазмы крови.....	35
1.5 Особенности COVID-19-ассоциированной коагулопатии.....	37
1.5.1 COVID-19-ассоциированная коагулопатия	37
1.5.2 Лабораторная диагностика COVID-19-ассоциированной коагулопатии.....	40
1.5.3 Клинические проявления COVID-19-ассоциированной коагулопатии..	42
1.6 Методы коррекции нарушений системы гемостаза, ассоциированных с новой коронавирусной инфекцией.....	46
1.7 Постковидный синдром.....	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	57
2.1 Характеристика обследованной группы пациентов.....	57
2.2 Преаналитическая подготовка.....	63
2.3 Методы исследования.....	65
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ОСТРОЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	74
3.1 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов с COVID-19	

	в острой стадии заболевания.....	74
3.1.1	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания в сравнении со здоровыми лицами.....	74
3.1.2	Влияние антитромботической терапии на состояние плазменного гемостаза у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания.....	78
3.1.3	Особенности плазменного гемостаза у пациентов с COVID-19 в зависимости от течения и исхода заболевания.....	83
3.2	Взаимосвязь тромбоцитопении с изменениями в системе гемостаза и тяжестью течения заболевания у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания.....	89
3.3	Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания.....	93
3.4	Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов в острой стадии заболевания.....	97
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ.....		101
4.1	Влияние перенесённой коронавирусной инфекции на тромбоцитарное звено гемостаза.....	101
4.1.1	Функциональная активность тромбоцитов пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме.....	102
4.1.2	Функциональная активность тромбоцитов пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме.....	103
4.2	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию.....	104
4.2.1	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести.....	105

4.2.2	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме	108
4.2.3	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от наличия тромботических осложнений.....	114
4.3	Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию.....	118
4.4	Микрочастицы плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию.....	120
4.4.1	Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме.....	120
4.4.2	Функциональная активность микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме.....	122
4.4.3	Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме.....	123
4.4.4	Функциональная активность микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме.....	125
4.5	Ассоциация некоторых гемостатических показателей с иммунологическими изменениями у пациентов, перенесших COVID-19.....	126
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВО НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И ТЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ.....		130
5.1	Распределение пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, по группам крови по системе АВО.....	130

5.2	Влияние групповой принадлежности крови по системе АВО на показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза.....	131
5.2.1	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, в зависимости от групповой принадлежности крови.....	132
5.2.2	Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от групповой принадлежности крови.....	133
ГЛАВА 6. АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....		136
6.1	Алгоритм исследования системы гемостаза в остром периоде заболевания.....	136
6.2	Алгоритм исследования системы гемостаза после перенесенного COVID-19.....	138
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....		141
ВЫВОДЫ.....		163
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....		165
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....		166
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....		167
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		170
ПРИЛОЖЕНИЕ.....		192
Приложение А 1 (справочное).....		192
Приложение А 2 (справочное).....		193

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Исследование системы гемостаза в норме и при патологических состояниях, в том числе и при инфекционных заболеваниях, с использованием различных методов оценки системы свертывания крови, представляет интерес как для изучения патогенеза заболеваний, так и для оптимизации назначаемой терапии. Не вызывает сомнений большое значение изменений системы гемостаза, развивающихся на фоне новой коронавирусной инфекции, в развитии тромботических осложнений, ухудшающих как течение, так и исходы заболевания.

Новая коронавирусная инфекция (заболевание COVID-19), вызванная вирусом SARS-CoV-2, началась в городе Ухань (КНР) в конце 2019 г., а уже в марте 2020 г. ВОЗ объявила о начале пандемии, которая характеризовалась быстрым распространением, высокой контагиозностью, разнообразием вариантов клинического течения, развитием несовместимых с жизнью осложнений. Благодаря усилиям врачебного сообщества, ученых различного профиля и других заинтересованных лиц пандемия была остановлена, новая коронавирусная инфекция переведена в статус сезонного респираторного заболевания, но до настоящего времени по всему миру продолжают регистрировать появление новых штаммов коронавируса и достаточно большое количество случаев заболевания, в том числе с тяжелым течением, развитием осложнений и необходимостью госпитализации. Реакция организма на внедрение коронавируса приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов с развитием цитокинового шторма, массивному повреждению эндотелия, активации системы гемостаза с экспонированием тканевого фактора, взаимодействию нейтрофилов и тромбоцитов. Все перечисленные изменения ассоциируются с увеличением протромботического потенциала крови, нарушением микроциркуляции с развитием респираторного дистресс-синдрома, полиорганной недостаточности, артериальных и венозных тромбозов [74; 106; 166; 183]. Для больных COVID-19

характерно изменение физиологической атромбогенной поверхности эндотелиальной выстилки сосудов на проадгезивную и прокоагулянтную. На этом фоне отмечается значимое повышение активации тромбоцитов, которые предоставляют каталитическую поверхность для генерации тромбина. Также описаны биохимические изменения клеточной мембраны и внутриклеточного содержимого эритроцитов, которые приводят к образованию эритроцитарных агрегатов и ухудшению реологии крови [169; 211]. Определенный вклад в развитие протромбогенного потенциала вносят микрочастицы, которые появляются в кровотоке в результате внутрисосудистой активации клеток [22]. Общеизвестными факторами риска тромбоза, которые часто встречаются и имеют большое значение на фоне COVID-19, являются: возраст, ожирение, беременность, курение, иммобилизация, онкологические и некоторые соматические заболевания. Кроме того, одним из факторов риска тромбоза считается наличие не первой группы крови по системе АВО, что связывают с более высокой активностью фактора Виллебранда у лиц с присутствием другой группы крови [151]. Все вышеперечисленное свидетельствует о существовании значимого прокоагулянтного вектора у пациентов с COVID-19, который, судя по накопленным клиническим наблюдениям, может сохраняться у пациентов и после перенесенного заболевания, обуславливая развитие отсроченных тромботических осложнений в период реконвалесценции [67].

Высокая частота тромботических осложнений определяет необходимость назначения пациентам анти тромботической терапии, эффективность которой не всегда соответствует ожиданиям, в связи с тем, что ко всем пациентам применяются стандартные схемы и подходы [7; 189]. Выявление нарушений в системе гемостаза, характерных для гиперкоагуляции, у пациентов указанной группы с помощью общепринятых в лабораторной практике коагуляционных тестов, таких как АПТВ, протромбиновый тест по Квику и концентрация фибриногена не может быть достигнуто в силу их низкой способности к определению протромботических изменений [16; 39]. В связи с этим представляется важной и актуальной разработка эффективных критериев

диагностики протромботических нарушений в системе гемостаза у больных COVID-19, а также поиск информативных методов мониторинга эффективности антитромботической терапии, широко применяемой у этой категории больных.

Актуальность настоящего исследования обусловлена необходимостью комплексной оценки состояния системы гемостаза у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, отсутствие подходов к которой не позволяет своевременно прогнозировать развитие гиперкоагуляции и выявлять группы высокого риска развития тромботических осложнений. Также крайне важным представляется оценка прокоагулянтных изменений после перенесенного заболевания, что позволит оптимизировать назначение антитромботической терапии и в периоде выздоровления.

Степень разработанности темы

В настоящее время большое количество исследований посвящено описанию и изучению изменений системы гемостаза, происходящих на фоне острого течения новой коронавирусной инфекции. Результаты работ широко представлены в литературных источниках. Однако спектр используемых лабораторных методов в основном ограничен стандартными методиками и коагуляционными тестами, которые не применимы для персонифицированной оценки тромботического риска. Основными маркерами гиперкоагуляции у данной категории больных признаны высокие уровни фибриногена и D-димера, неспецифического маркера активации гемостаза. D-димер также рассматривается как маркер неблагоприятного течения и исхода заболевания [34; 77; 102]. Помимо констатации прокоагулянтных изменений, в литературе также встречаются и другие данные, свидетельствующие о повышенном риске развития геморрагических осложнений на фоне снижения активности некоторых факторов свертывания крови, а также ввиду наличия тромбоцитопении [55; 170]. Нарушению эндотелиальной функции посвящено значительно меньшее число исследований, чем особенностям плазменного гемостаза, несмотря на признанную роль эндотелиальной дисфункции как в патогенезе COVID-19, так и в развитии осложнений заболевания [122]. Также

представлено недостаточно данных об изменениях системы естественных антикоагулянтов, состояние которых может играть одну из ключевых ролей в развитии протромботической направленности гемостаза. Актуальным остается вопрос оценки эффективности антикоагулянтной профилактики. Для этих целей предлагается использовать определение анти – Ха активности, преимущества которой по сравнению с особенностями динамики образования тромбина до сих пор являются предметом дискуссии [57]. Небольшое число исследований посвящено также изменениям клеточного звена гемостаза, в частности активации тромбоцитов и методам ее оценки [171; 209]. В литературе присутствуют в основном только теоретические данные о роли микрочастиц плазмы крови в развитии прокоагулянтных изменений на фоне коронавирусной инфекции. Проведенные научные исследования, посвященные этому вопросу, единичны [38]. Несмотря на признанное наличие повышенного риска тромботических осложнений после перенесенного заболевания, результаты исследования состояния системы гемостаза в период выздоровления представлены недостаточно. Дискутабельным остается вопрос необходимости, объема, длительности назначения и мониторинга эффективности антитромботической терапии после выздоровления. Представленные в литературе исследования системы свертывания крови сфокусированы в основном на отдельных группах показателей, что не даёт возможности оценить общее состояние гемостаза и, зачастую, направленность изменений гемостатических реакций. С учетом медико-социальной значимости заболевания, тяжести течения, обусловленной в том числе и высокой вероятностью тромбоэмболических осложнений, представляется актуальной и необходимой разработка комплексного подхода к оценке состояния всех участников гемостатического процесса при данной патологии.

Цель исследования

Обосновать способы комплексной оценки протромботических изменений системы гемостаза и эффективности антитромботической терапии у пациентов с COVID-19.

Задачи исследования

1. Проанализировать состояние гемостаза у пациентов с COVID-19 в остром периоде и после перенесенного заболевания.
2. Оценить состояние эндотелия и системы протеина С у пациентов с COVID-19 в остром и постковидном периоде.
3. Оценить роль тромбоцитарного звена гемостаза и клеточных микрочастиц в развитии протромботических изменений у пациентов с COVID-19.
4. Определить, на основании исследования показателей системы гемостаза и групп крови по системе АВО, прогностическую значимость лабораторных критериев неблагоприятного течения COVID-19.
5. Определить значение теста генерации тромбина в оценке состояния системы гемостаза и мониторинге антитромботической терапии у пациентов в различные периоды COVID-19.
6. Разработать алгоритм анализа эффективности антитромботической терапии больных COVID-19 на основании лабораторных критериев оценки системы гемостаза.

Научная новизна

Установлена диагностическая значимость расчетного параметра – индекса коагуляции, разработанного на основании показателей теста генерации тромбина, для выявления гиперкоагуляции и оценки эффективности антикоагулянтной терапии у пациентов с COVID-19.

Показано, что неблагоприятное течение COVID-19 ассоциировано с повышением активности и уровня фактора Виллебранда, снижением активности антитромбина и протромбинового теста по Квику, увеличением количества микрочастиц плазмы крови тромбоцитарного происхождения.

Выявлено значительное повышение количества микрочастиц плазмы крови тромбоцитарного происхождения у пациентов в остром периоде и после

перенесенного COVID-19. Впервые показано, что рост коагуляционной активности микрочастиц плазмы крови ассоциируется с развитием протромботических изменений после перенесенного заболевания.

Впервые выявлено протективное повышение уровня протеина S у лиц, перенесших COVID-19, без тромботического анамнеза.

Установлено, что прием прямых оральных антикоагулянтов способствует восстановлению эффективности антикоагулянтной системы протеина C у пациентов, получающих данные препараты после перенесенного COVID-19.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Уточнен патогенез протромботического состояния при новой коронавирусной инфекции как в остром периоде, так и после перенесенного заболевания. Выявлены особенности, характеризующие протромботическую направленность изменений плазменного звена гемостаза, состояние системы естественных антикоагулянтов, выраженность эндотелиальной дисфункции и клеточной активации.

Установлено значение изменений системы гемостаза, таких как увеличение количества тромбоцитарных микрочастиц и уровня D-димера, снижение протромбинового теста по Квику, в качестве дополнительных прогностических маркеров неблагоприятного течения и исхода заболевания.

Установлено наличие прокоагулянтных изменений, которые могут сохраняться в течение шести месяцев после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Определена информативность индекса коагуляции, рассчитанного на основании параметров теста генерации тромбина, для персонифицированной оценки протромботического состояния системы гемостаза и мониторинга антитромботической терапии у пациентов с COVID-19.

На основании результатов исследования системы гемостаза предложена оптимизация антитромботической терапии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

В рамках диссертационной работы разработана методика определения циркулирующих микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию (утв. ФМБА России, 2023 г.), подготовлены методические рекомендации «Комплексный подход к оценке состояния системы гемостаза и мониторингу антитромботической терапии при новой коронавирусной инфекции» (утв. ФМБА России, 2022 г.).

При выполнении диссертационной работы получены результаты интеллектуальной деятельности, способные к правовой охране и оформленные в виде ноу-хау.

Ноу-хау «Предикторы тяжести течения и возможного неблагоприятного исхода новой коронавирусной инфекции у жителей Северо-Западного региона РФ». Номер государственного учета РИД 621100800127-8.

Ноу-хау «Оценка состояния системы гемостаза и мониторинг антикоагулянтной терапии по индексу коагуляции». Номер государственного учета РИД 622101900190-7.

Ноу-хау. «Выявление гиперкоагуляции у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести». Номер государственного учета РИД 623100400454-7.

Ноу-хау «Микрочастицы плазмы крови тромбоцитарного происхождения как предикторы возможного неблагоприятного исхода новой коронавирусной инфекции». Номер государственного учета РИД 623100400455-4.

Методология и методы исследования

Научная методология была основана на комплексном подходе к оценке системы гемостаза. В работе использованы общеклинические, коагулологические, биохимические, иммунологические, статистические методы исследования. Спектр использованных методов исследования соответствует современному методологическому уровню анализа системы гемостаза. Применённые методы статистической обработки данных отвечают поставленной цели и задачам исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Комплексная оценка системы гемостаза пациентов в остром периоде и после перенесенной новой коронавирусной инфекции, включающая анализ активации плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, дисфункции эндотелия и системы естественных антикоагулянтов, позволяет объективно выявлять протромботические изменения.

2. Маркерами прогноза неблагоприятного течения COVID-19 являются снижение протромбинового теста по Квику, повышение уровня D-димера и количества тромбоцитарных микрочастиц.

3. Методом выбора для оценки состояния системы гемостаза и мониторинга антитромботической терапии при коронавирусной инфекции является тест генерации тромбина. Расчетный показатель, индекс коагуляции, представляет собой удобный и информативный инструмент оценки гемостатического потенциала.

4. Предложенный алгоритм анализа системы гемостаза применим для определения эффективности антитромботической терапии у пациентов с COVID-19, что позволяет оптимизировать ее использование в различные периоды заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обусловлена детальным теоретическим анализом проблемы, достаточным количеством объектов исследования, необходимым объёмом проведённых исследований, характеризующих систему гемостаза, и адекватным статистическим анализом данных.

Основные материалы исследования представлены на 2-ой научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 11 декабря 2020 г.), I Всероссийском Конгрессе с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики (Москва, 25 – 27 мая 2021 г.),

международном конгрессе ISTH Virtual Congress (Philadelphia, July 17 – 21 2021).
Российском Форуме по Тромбозу и Гемостазу (Москва, 17 – 19 марта 2022 г.), VII
Всероссийской научно-практической конференции с международным участием
«Инфекции и инфекционная безопасность в гематологии и службе крови» (Санкт-
Петербург, 14 – 15 апреля 2022 г.), Всероссийской научно-практической
конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и
трансфузиологии», посвященной 90-летию РосНИИГТ (Санкт-Петербург, 30 июня
2022 г.), Российском Диагностическом Саммите (Москва, 06 – 08 сентября 2022 г.),
European Hematology Association Congress (Frankfurt, June 8 – 15 2023), IX
Республиканском Конгрессе специалистов клинической лабораторной
диагностики Республики Беларусь (Минск, 18 – 19 мая 2023 г.), II Всероссийском
конгрессе с международным участием «Академия лабораторной медицины:
новейшие достижения» (Москва, 30 мая – 1 июня, 2023 г.), Российском
Диагностическом Саммите (Москва, 04 – 06 октября 2023 г.), XVI Всероссийской
научно-практической конференции «Тольяттинская осень – 2023.
Междисциплинарная школа по тромбозу и гемостазу» (Тольятти, 27 – 28 октября
2023 г.), «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и
трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 28 – 29 марта 2024 г.), Всероссийской
научно-практической конференции с международным участием «Актуальные
вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 20 – 21 июня 2024
г.), международном конгрессе ISTH Congress 2024 (Bangkok, June 22 – 26 2024).

Соответствие содержания паспорта научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности
3.1.28 – Гематология и переливание крови. Результаты проведенного исследования
соответствуют области исследования специальности 3.1.28 – Гематология и
переливание крови, а именно п.2.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального Медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России). Теоретические положения и практические результаты диссертационного исследования используются в образовательной деятельности ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 29 печатных работ, в том числе 11 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.28 – Гематология и переливание крови. Получен патент на изобретение № 2817000 Российская Федерация, СПК G01N 33/4905, G01N 33/86. Способ оценки системы гемостаза: № 2817000: заявл. 14.03.2023: опубл. 09.04.2024 / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина; заявитель ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (приложение А 1). Получен патент на изобретение № 2835545 Российская Федерация, СПК G01N 33/6872, G01N 33/577, G01N 2333/70557. Способ прогнозирования неблагоприятного исхода развития заболевания при коронавирусной инфекции: № 2835545: заявл. 18.12.2023: опубл. 26.02.2025 / О.Ю. Матвиенко, О.А. Смирнова; заявитель ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (приложение А 2).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в формулировке цели и задач проведенного исследования. Автором выполнялся поиск и анализ источников литературы, формирование выборки обследуемых пациентов, сбор анамнестических и клинических данных лиц, включенных в исследование. Автором лично проведен ряд лабораторных тестов, в том числе исследование характеристик микрочастиц методом проточной цитометрии, определение показателей генерации тромбина и коагуляционной активности микрочастиц, а также сбор и последующий статистический анализ данных, интерпретация полученных результатов. Представленные в диссертации материалы получены, обработаны и проанализированы автором лично. Непосредственно автор осуществлял написание и оформление рукописи. Процент личного участия в выполнении работы составляет более 80%.

Структура и объём работы

Диссертационная работа представлена на 193 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 4-х глав с изложением собственных результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив разработки темы, библиографии и приложения. Список литературы включает 218 источников (отечественных и зарубежных). Работа содержит 17 рисунков и 35 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Введение

Вирус SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus), вызывающий заболевание COVID-19, был впервые выявлен в декабре 2019 г. в городе Ухань, Китай. История распространения данного вируса началась с 27 случаев пневмонии неизвестной этиологии. У пациентов наблюдались такие симптомы как лихорадка, одышка, сухой кашель, а рентгенологические данные показали двустороннее поражение легких и наличие стекловидных помутнений. Начавшись с локальной вспышки, инфекция быстро распространилась повсеместно, став глобальной мировой проблемой. В январе 2020 г. ВОЗ объявила эпидемию COVID-19, которая приобрела характер пандемии с марта 2020 г. и стала чрезвычайной ситуацией для здравоохранения во всем мире [74; 93; 126; 166; 208; 216]. COVID-19 – острое респираторное заболевание, течение которого имеет больше общих черт с гриппом, чем с другими острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), вызываемыми риновирусами, аденовирусами, доброкачественными штаммами коронавирусов. При обоих заболеваниях клиническая картина может варьировать от бессимптомной до тяжелой пневмонии. Кроме того, как COVID-19, так и грипп передаются в основном контактным и воздушно-капельным путем. Однако вирус SARS-CoV-2 характеризуется значительно более высокой контагиозностью и длительным инкубационным периодом, в течение которого больной может являться активным распространителем инфекции. COVID-19 характеризуется постепенным развитием симптомов, поражением органов дыхания, наличием высокой лихорадки, миалгии, слабости, сухого кашля, одышки. При инструментальном исследовании органов грудной клетки часто встречаются рентгенологические признаки пневмонии. В тяжелых случаях может развиваться инфекционно-токсический шок, острый респираторный дистресс – синдром (ОРДС), острая сердечная, почечная недостаточность, тромбозы микроциркуляторного русла и

крупных сосудов, что может приводить к летальному исходу [98; 99]. Наибольшее распространение заболевание получило среди взрослого населения. Большинство подтвержденных случаев заражения вирусом SARS-CoV-2 наблюдалось у пациентов, возраст которых колебался от 30 до 79 лет, независимо от гендерной принадлежности [81]. Отмечено, что с увеличением возраста частота госпитализаций возрастала, также как и летальных исходов [195]. Среди детского населения распространенность COVID-19 существенно ниже, возможно, это обусловлено меньшим выявлением заболевания из-за нетипичной клинической картины. У детей заболевание протекает в более легкой форме, зачастую отсутствуют симптомы, характерные для взрослых, такие как головная боль, мышечная слабость, кашель, также редко встречается поражение легких. Однако дети младшего возраста могут быть активными распространителями вируса SARS-CoV-2, особенно фекально-оральным путем [97].

1.2 Особенности вируса SARS-CoV-2

Вирус SARS-CoV-2 представляет собой оболочечный одноцепочечный (+) РНК-вирус, относящийся к роду Betacoronavirus. Семейство коронавирусов известно человечеству достаточно давно, его представители были впервые обнаружены еще в 1960 году. Ранее выявленные штаммы коронавируса вызывали респираторные заболевания с легким течением, однако некоторые вирусы были связаны с локальными вспышками тяжелых инфекций дыхательных путей, которые сопровождались высокой летальностью [84; 206]. Так, коронавирус SARS-CoV в 2002 г. вызвал эпидемию ОРДС, смертность от которого составляла около 10%, а другой коронавирус MERS-CoV стал причиной ближневосточного респираторного синдрома в 2012 г., когда смертность составляла около 35% [153]. Эти вирусы являются возбудителями зооантропонозов, также как и коронавирус SARS-CoV-2, который человек получил от летучих мышей. Однако коронавирус SARS-CoV-2 имеет существенное отличие от SARS-CoV и MERS-CoV, которое заключается в возможности его передачи от человека к человеку преимущественно

воздушно-капельным путем [103; 111; 152; 159]. Проникновение вируса внутрь клетки стало возможным благодаря наличию у вируса SARS-CoV-2 так называемого S-белка (spike protein), который представлен на поверхности вируса и с большой аффинностью связывается с ангиотензин - превращающим ферментом 2 (ACE2). Кроме S-белка SARS-CoV-2 включает ещё три структурных домена: нуклеокапсид (N), мембранный белок (M) и оболочечный белок (E, envelope). N, M и E протеины необходимы для сборки и высвобождения вирусных частиц (Рисунок 1).

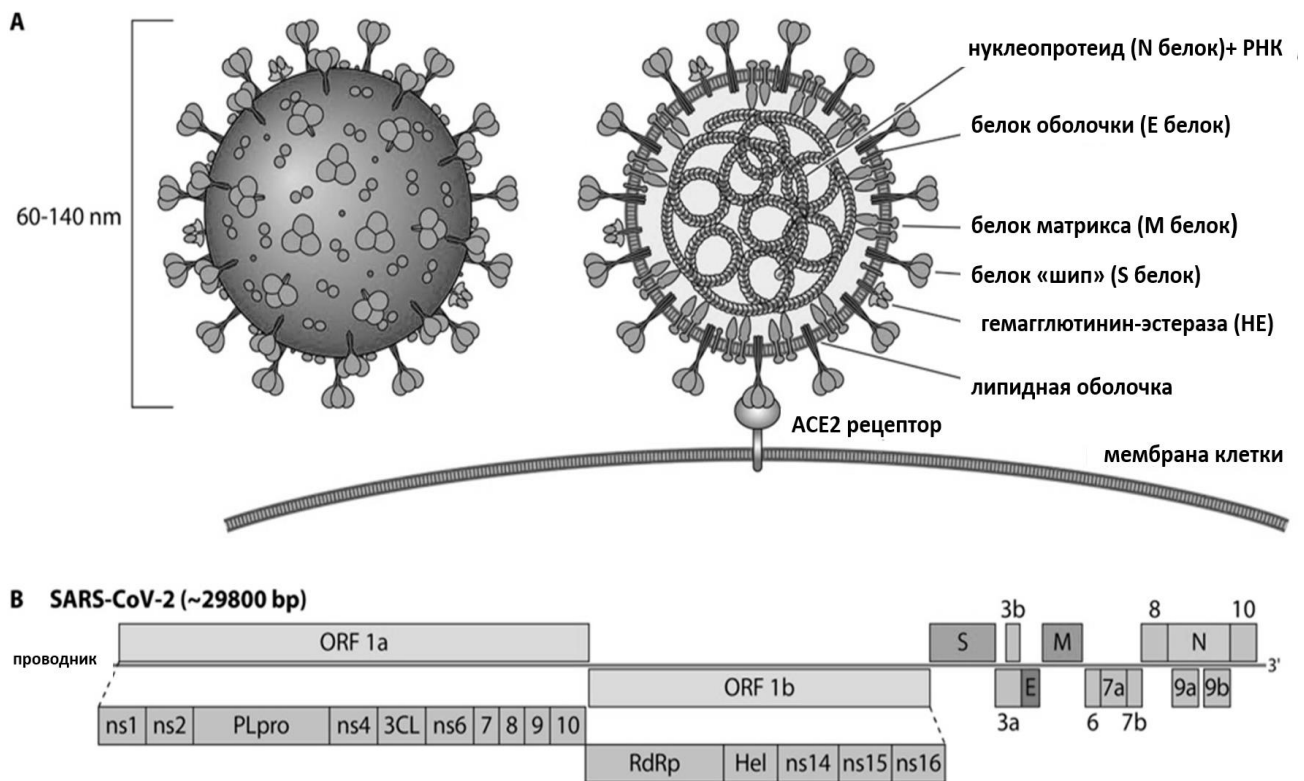


Рисунок 1 – Структура вируса SARS-CoV-2. А – Схема вириона SARS-CoV-2, В – Схема структуры генома SARS-CoV-2 (Gitman M.R. Diagnostics, July 2021)

Крайне важным для прикрепления и дальнейшего проникновения в клетку-хозяина является S-белок, который состоит из двух функциональных субъединиц S₁ и S₂. S₁ субъединица отвечает за прикрепление вируса к мембране клетки-хозяина за счёт взаимодействия с ACE2, S₂ субъединица – за проникновение

внутри клетки в результате слияния вируса с клеточной мембраной за счёт трансмембранного белка TMPRSS2, обладающего активностью сериновой протеазы. После слияния с мембраной вирус SARS-CoV-2 попадает в клетку путем эндоцитоза, происходит репликация и образование вирусных частиц, способствующих апоптозу инфицированной клетки. ACE2 обнаруживается на мембране эндотелиоцитов сосудов различных органов и тканей, однако наибольшая его экспрессия характерна для желудочно-кишечного тракта, почек, легких и сердца. TMPRSS2 в большом количестве обнаруживается в легких и подвздошной кишке, умеренно – в почках [118]. Повышенная экспрессия ACE2 характерна для пациентов с ожирением, диабетом, онкологических больных, курильщиков, что может быть связано с более тяжелым течением заболевания у данной категории пациентов [130; 199].

Параллельно с процессом инфицирования в крови резко увеличивается концентрация медиаторов воспаления и острофазных белков, что свидетельствует о наличии иммунного ответа, от которого зависят дальнейшие этапы развития и, во многом, исход заболевания.

1.3 Состояние иммунитета, развитие цитокинового шторма при COVID-19

Новая коронавирусная инфекция с самого начала заболевания ассоциируется с выраженными признаками активации иммунитета и воспаления, о чем говорит увеличение концентрации белков острой фазы, таких как фибриноген, ферритин, СРБ, сывороточный амилоид А, а также высокие значения СОЭ [35]. Врожденная иммунная система является первой линией защиты от любой вирусной инфекции. Когда вирус SARS-CoV-2 колонизирует свои клетки-мишени, одноцепочечная РНК вируса активирует клетки врожденного иммунитета, задействуя различные типы распознающих рецепторов (pattern recognition receptors, PRRs), экспрессируемых моноцитами/макрофагами, дендритными клетками, нейтрофилами. Показано, что высвобождение цитокинов, обуславливающих

активацию и миграцию моноцитов и нейтрофилов, вызвано взаимодействием РНК вируса SARS-CoV-2 с Toll-подобными рецепторами (Toll-like receptors, TLR) [152]. Также TLR обнаруживают aberrантные структуры РНК, образующиеся во время вирусной репликации. Активация PRR вызывает запуск факторов транскрипции, среди которых отмечаются ядерный фактор-кВ (NF-кВ), а также фактор регуляции интерферона (IRFs). Эти факторы запускают клеточную противовирусную защиту путем активации транскрипции интерферонов I и III типов (IFN-I и IFN-III), а также интерферон-стимулируемых генов (ISG), цитокинов (TNF- α , IL-1 и IL-6) и хемокинов (IL-8). Отмечено, что наиболее высокие уровни провоспалительных цитокинов и хемокинов обнаруживаются в сыворотке крови у пациентов с тяжелой формой COVID-19 [116; 144]. Цитокиновый профиль у пациентов с неблагоприятным течением COVID-19 включает повышенный уровень IL-2, IL-6, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, хемоаттрактантного белка моноцитов 1 и 3, макрофагального воспалительного белка 1 α и фактора некроза опухоли (TNF). У пациентов с коронавирусной инфекцией развивается дисбаланс иммунного ответа. Подобные изменения характерны для гипервоспалительного синдрома при вторичном гемофагоцитарном лимфогистиоцитозе (ГЛГ), описанном как осложнение инфекционных, онкологических и аутоиммунных заболеваний. Развитие ГЛГ обусловлено дисфункцией иммунной системы, характеризующейся неконтролируемой активацией Т-лимфоцитов и макрофагов на фоне снижения цитолитической активности NK-клеток и CD8⁺ Т-лимфоцитов, сопровождающейся аккумуляцией их в пораженных органах с развитием системного воспалительного ответа [31; 205]. IL-6 – один из ключевых цитокинов в развитии ГЛГ, подавляет цитолитическую функцию NK-клеток. При COVID-19 активация макрофагов, по-видимому, является неотъемлемой частью инициации и распространения гипервоспалительной реакции. На поверхности макрофагов обнаружено наличие ACE2 и показано, что шиповидные белки вируса SARS-CoV-2 (S-белки) взаимодействуют с макрофагами CD68⁺, что свидетельствует о прямом инфицировании этих клеток [82]. Инфицированные макрофаги имеют более высокую экспрессию хемокинов, вирус SARS-CoV-2 вызывает глубокие

изменения фенотипа макрофагов, подавляя экспрессию аполипопротеинов, которые важны для нормального развития макрофагов с поляризацией в сторону противовоспалительного фенотипа [139; 180]. Вирус SARS-CoV-2 вызывает более выраженную нейтрофильную инфильтрацию, чем другие инфекции, протекающие с поражением бронхолегочной системы. Количество нейтрофилов значительно превалирует над числом лимфоцитов и выраженный нейтрофилез является предиктором неблагоприятных исходов у пациентов с COVID-19. Образование внеклеточных нейтрофильных ловушек (NETs), которые играют значимую роль в высвобождении и распространении цитокинов, происходит в результате активации нейтрофилов и ассоциируется с гиперовоспалительной реакцией, что, в свою очередь, усугубляет повреждение легких, главным образом в случаях тяжелого течения заболевания [163; 200]. При различных вирусных инфекциях провоспалительным реакциям обычно предшествуют IFN-опосредованные противовоспалительные процессы, которые оптимизируют защиту макроорганизма. Вирус SARS-CoV-2 вырабатывает ряд белков, блокирующих передачу сигналов, индукцию IFN и экспрессию ISG, при этом образование провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-6 и IL-8, опережает по времени синтез IFN и персистирует на протяжении длительного времени. У ряда заболевших отмечается стремительный рост содержания провоспалительных агентов, приводящий к явлениям «цитокинового шторма», развитие которого коррелирует с неблагоприятным исходом новой коронавирусной инфекции (Рисунок 2) [6; 213].

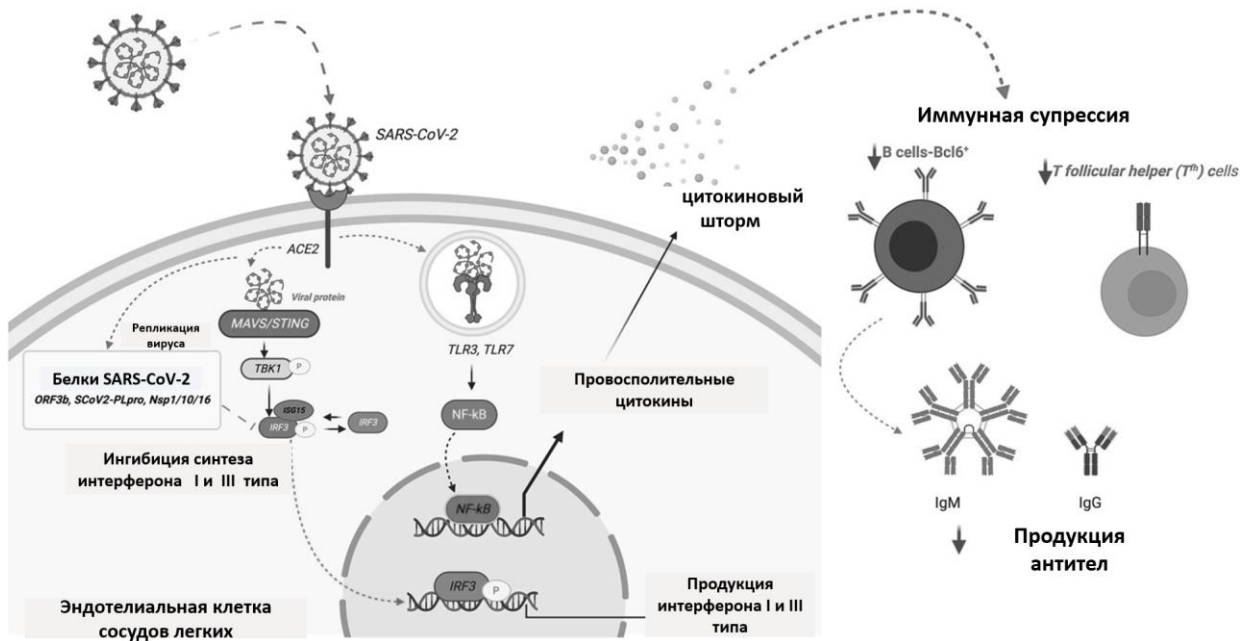


Рисунок 2 – Влияние на иммунный ответ вируса SARS-CoV-2
(Kumar A. Journal of Medical Virology, October 2020)

Наиболее грозным осложнением новой коронавирусной инфекции является «цитокиновый шторм», который ассоциирован с системным гипервоспалением, неконтролируемым увеличением количества иммунных клеток и их непрерывной активацией, дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов. На фоне COVID-19 «цитокиновый шторм» развивается вследствие несостоятельности иммунного ответа на инфицирование вирусом и клинически проявляется поражением легких, сердца, почек и печени, что может приводить к полиорганной недостаточности и летальному исходу [28; 109].

Распространенной особенностью тяжелого течения COVID-19 является лимфопения, характеризующаяся резко сниженным абсолютным числом CD4+, CD8+ Т-клеток, это истощение коррелирует с тяжестью заболевания и связанной с ней смертностью [129; 214]. Выделяют несколько возможных причин развития лимфопении, среди которых наиболее распространены предположения о том, что вирус SARS-CoV-2, соединяясь непосредственно с лимфоцитами, которые экспрессируют ACE2, лизирует их, и также полагают, что «цитокиновый шторм» способствует апоптозу лимфоцитов. Протеомный анализ клеток периферической

крови больных COVID-19 позволил отметить снижение количества Т-клеток, включая более низкую экспрессию Т-клеточного рецептора (TCR). У пациентов с COVID-19, в особенности, у больных с тяжелым течением заболевания, выявлены низкие уровни поверхностных молекул Т-клеток (CD4, CD8a, CD8b и CD2), стимуляторов миграции Т-клеток (DDP4), сигнальных киназ TCR, что указывает на глобальное нарушение адаптивного иммунного ответа. Снижение количества периферических Т-клеток может быть обусловлено также повышенной их миграцией в легкие или другие инфицированные ткани. Периферические CD8⁺ Т-клетки пациентов с COVID-19 экспрессируют высокие уровни маркеров истощения, включая белок запрограммированной гибели клеток (PD1) и Т-клеточный иммуноглобулин муцин-3 (TIM3). Данный паттерн экспрессии более характерен для пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии, чем для лиц с легкой формой заболевания. У пациентов с COVID-19 также обнаружено низкое количество натуральных киллеров (NK), что сопровождается более высокой экспрессией гетеродимера CD94–NKG2A, который ингибирует цитотоксическую активность NK-клеток. На фоне увеличения экспрессии CD94–NKG2A количество Т-клеток CD8⁺ и NK-клеток постепенно восстанавливается в процессе выздоровления [185]. Таким образом, дефекты Т-клеток, отсутствие эффективного противовирусного ответа Т-клеток и NK-клеток имеют большое значение в поддержании высокой вирусной нагрузки, устойчивого выделения вируса, гиперактивации врожденного иммунного ответа, что играет патогенетическую роль в развитии полиорганной недостаточности у больных COVID-19 с клинически тяжелым течением заболевания [196].

В-лимфоциты выполняют жизненно важную функцию в защите от вирусных инфекций, производя специфические антитела. Они также имеют решающее значение для профилактики инфекционных заболеваний путем вакцинации. Если врожденный иммунитет обеспечивает первичную и неспецифическую защиту от вируса в течение нескольких дней после заражения, то специфический иммунитет обеспечивается В-клетками, продуцирующими антитела, которые после разрешения болезни превращаются в В-клетки памяти и формируют длительный

иммунитет. Полагают, что в результате инфекции клетки В-1 накапливаются в лимфоидных тканях, затем дифференцируются в лимфоциты, продуцирующие антитела и способные вырабатывать ИЛ-10, играющий защитную противовоспалительную роль и ограничивающий гипервоспаление. Показано, что продукция ИЛ-10 клетками В-1 снижает продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов макрофагами и приток нейтрофилов в легкие [168; 172]. Клетки В-1а, продуцирующие ИЛ-10, ингибируют продукцию активных форм кислорода, нарушают активацию макрофагов и предотвращают образование нейтрофильных ловушек (NETs) и, вследствие этого, могут защищать пациентов с COVID-19 от проявления острого респираторного дистресс-синдрома [103]. Однако у пациентов с COVID-19 отмечается снижение количества В-клеток с поверхностными маркерами клеток В-1, что по данным ряда авторов сопровождается низкими значениями уровня IgM и IgD в сыворотке [95; 202]. Фолликулярные В-клетки, также известные как В-2-клетки, отличаются большим разнообразием В-клеточных рецепторов (BCR) и необходимы для развития долгосрочных Т-зависимых гуморальных иммунных ответов [128]. Клетки В-2 играют потенциальную роль в эффективном иммунном ответе на инфицирование вирусом SARS-CoV-2 и в элиминации вируса. Было обнаружено, что BCL-6-экспрессирующие В-клетки отсутствуют во время острой фазы инфекции, обусловленной вирусом SARS-CoV-2, также было значительно снижено разнообразие BCR [154; 203]. Пациенты с тяжелым COVID-19 имеют повышенный уровень В-клеток памяти и антител с низкой соматической гипермутацией, которые обладают сниженной эффективностью. Это может быть связано с сильным экстрафолликулярным В-клеточным ответом, увеличением выработки провоспалительных цитокинов или дефектом образования функциональных лимфоидных фолликулов, где зрелые В-лимфоциты, активированные антигеном, пролиферируют, дифференцируются и претерпевают процессы соматического гипермутагенеза и переключения классов антител из-за уменьшения количества клеток Tfh в лимфоидных узлах и селезенке. При легкой форме COVID-19, наоборот, наблюдается устойчивая соматическая гипермутация, которая приводит

к генерации высокоаффинных плазматических клеток в герминативных центрах [147]. Гуморальный иммунитет зависит от правильной активации В-клеток при взаимодействии с другими иммунными клетками, что позволяет им дифференцироваться в В-клетки памяти и клетки, продуцирующие нейтрализующие антитела, которые вместе с факторами комплемента C3a и C5a помечают вирусы для уничтожения фагоцитарными клетками [132]. Хотя комплемент, как и другие компоненты врожденной иммунной системы, помогает контролировать бактериальные и вирусные инфекции, его чрезмерная активация на фоне длительной коронавирусной инфекции может быть патологической и вызывать прямое повреждение тканей. Вирус SARS-CoV-2 запускает в первую очередь лектиновый путь активации комплемента путем взаимодействия с лектином С-типа и активацией маннозосвязывающих лектин-ассоциированных сериновых протеаз. Это приводит к расщеплению компонентов C4 и C2 и обеспечивает сборку и последующую активацию конвертаз C3 и C5 с образованием провоспалительных анафилатоксинов C3a и C5a, соответственно, усиливающих воспалительную реакцию [60; 148]. Анафилатоксины способствуют множеству иммунных процессов, включая хемотаксис, нетоз, дегрануляцию клеток, производство цитокинов, инфламмасом, активных форм кислорода и эйкозаноидов [6; 109]. В дополнение к лектиновому пути способствовать повреждению тканей, вызванному коронавирусом, также может классический путь активации комплемента. Иммунные комплексы, образованные вирусными антигенами и антителами, могут через компонент C1 инициировать данный путь активации комплемента. В сыворотке пациентов с клинически тяжелым течением COVID-19 также обнаруживается повышение активации компонента альтернативного пути, фактора комплемента В и его основных модуляторов CFI и CFH, регулирующих данный путь активации. Выработка аутоантител против клеток легочного эпителия и эндотелиальных клеток при COVID-19 опосредована комплемент-зависимой цитотоксичностью, которой способствует повышенный уровень IgA. Предполагается, что COVID-19 может быть, по крайней мере частично, IgA-опосредованным заболеванием с клиническими проявлениями

иммуноглобулин А-ассоциированного васкулита, индуцированного цитотоксичностью, обусловленной активацией классического пути [89; 114; 156]. Вышеприведенные данные указывают на активацию комплемента, которая может способствовать повреждению эндотелиальных клеток, активации коагуляции и тромбозу, что в конечном итоге приводит к мультисистемному поражению органов у пациентов с COVID-19.

Таким образом, в результате проникновения вируса SARS-CoV-2 в клетки хозяина активируются все звенья как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Дальнейшее течение патологического процесса ассоциируется с нарушением клеточного ответа, гиперактивацией системы комплемента, увеличением концентрации провоспалительных цитокинов. Тяжелое течение COVID-19 сопровождается повреждением сосудов, опосредованным активацией системы комплемента и гипервоспалением. Значительное повышение концентрации интерлейкинов, хемокинов, факторов роста, гамма - интерферона, фактора некроза опухоли приводит к развитию «цитокинового шторма», приводя к неблагоприятному течению заболевания. Данные изменения иммунной системы играют ключевую роль в развитии эндотелиальной дисфункции и активации системы свертывания крови, приводящей к развитию тромботических осложнений. Тромбоз является причиной полиорганной недостаточности и тяжелых осложнений со стороны сердечно-сосудистой и центральной нервной систем при COVID-19 [35].

1.4 Эндотелиальная дисфункция и активация системы гемостаза при новой коронавирусной инфекции

1.4.1 Нарушения состояния эндотелия

Результаты многочисленных исследований, проводимых с целью изучения патогенетических основ развития состояний, сопутствующих COVID-19, выявили наличие непосредственной связи активации всех звеньев системы иммунитета,

вызванной инфицированием вирусом SARS-CoV-2, с появлением патологических изменений функций эндотелия – эндотелиальной дисфункции (ЭД). Согласно современным представлениям, ЭД играет важнейшую роль в развитии многих заболеваний, в первую очередь – сердечно-сосудистых. Поражение эндотелия сосудов рассматривают в качестве пускового механизма для развития прокоагулянтных изменений, ассоциированных с тромбоэмболическими осложнениями [16; 122; 131; 178].

Сосудистый эндотелий представляет собой однослойный пласт плоских клеток мезенхимального происхождения, который выстилает внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, а также сердечных полостей [45]. Клетки эндотелия не только создают барьер между кровью и тканями, но и выполняют целый ряд функций, что позволяет рассматривать эндотелий в качестве аутокринного, паракринного и эндокринного органа. Одной из важнейших является вазомоторная функция, которая осуществляется за счёт синтеза и секреции вазоконстрикторов и вазодилататоров и поддерживает сосудистый тонус. Среди вазоконстрикторов, кроме эндотелина-1 и тромбоксана A₂, выделяют сильнейший вазопрессорный агент – ангиотензин 2, который под действием ACE2 расщепляется до ангиотензина 1-7, обладающего, в отличие от ангиотензина 2, сосудорасширяющей активностью. Выраженный вазодилататорный эффект оказывают оксид азота (NO) и простаглицлин (PGI₂). Адгезионная функция обусловлена выработкой и экспрессией адгезивных молекул, таких как VCAM-1 и ICAM-1, которые участвуют в соединении лейкоцитов с клетками эндотелия, способствуя развитию реакций воспаления. Гемостатическая функция ассоциируется с атромбогенными свойствами интактного эндотелия, которые поддерживаются благодаря синтезу таких соединений как NO и PGI₂. Кроме того, атромбогенному состоянию эндотелия способствует синтез таких соединений как тканевой активатор плазминогена (t-PA), тромбомодулин (TM), ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), а также наличие рецепторов урокиназы и протеина С. В результате повреждения эндотелиальной выстилки сосудов атромбогенный фенотип эндотелия меняется на тромбогенный, чему способствует синтез и

экспрессия тканевого фактора (ТФ), фактора Виллебранда (vWF), ингибиторов активаторов плазминогена (РАI-1 и РАI-2), молекул адгезии и вазоконстрикторов, таких как эндотелин-1 и тромбоксан А2. Таким образом, нормальное функционирование эндотелия играет ключевую роль в поддержании гемостатического баланса. Помимо этого, эндотелий участвует в процессах ангиогенеза, иммунного ответа, миграции лейкоцитов через сосудистую стенку, сохранении баланса жидкости, обмене компонентов межклеточного матрикса [8; 9; 20].

Результатом влияния целого ряда патофизиологических стимулов на эндотелий, к которым можно отнести не только такие факторы, как скорость сдвига, давление, газовый состав крови, но так же действие вазоактивных соединений, гормонов, тромбина, различных цитокинов, эндотоксинов, инфекционных агентов, является развитие провоспалительной активации, ассоциированной с изменением регуляции генома с последующим ремоделированием, что способствует изменению состояния эндотелия, которое можно определить как эндотелиальную дисфункцию с хроническим нарушением микроциркуляции органов и тканей и развитием осложнений. Нарушение функции эндотелия рассматривается в настоящее время как универсальное неспецифическое звено в патогенезе различных заболеваний. Дисфункция эндотелия – стойкое изменение структуры и/или функциональной активности эндотелия, приводящее к нарушению регуляции сосудистого тонуса, тромбозу и другим осложнениям. Учитывая роль эндотелия, выделяют несколько форм его дисфункции в зависимости от основных нарушений. Так, вазомоторная форма связана с нарушением образования вазоактивных веществ, гемостатическая — с дисбалансом образования тромбогенных и атромбогенных эндотелиальных факторов, адгезионная — с дисбалансом экспрессии эндотелиальных молекул адгезии, ангиогенная — с избыточным образованием ангиогенных факторов и/или изменением чувствительности эндотелиальных клеток к различным ангиогенным факторам [10; 72]. Полагают, что развитие дисфункции сосудистого эндотелия является существенной составляющей патогенеза повреждения различных

органов, в первую очередь легких, при новой коронавирусной инфекции. Именно эндотелиоциты, поражение которых приводит к основным проявлениям заболевания, рассматривают в качестве основной мишени вируса SARS-CoV-2 [142]. Эндотелий и гладкомышечные клетки сосудов экспрессируют в большом количестве ACE2, который вирус SARS-CoV-2 использует в качестве входных ворот в клетку. В связи этим практически у всех больных COVID-19 сердечно-сосудистая система вовлекается в системное повреждение. Трансмембранный белок ACE2 присутствует на эндотелии как артериальных, так и венозных сосудов практически всех органов, а также в значительном количестве представлен на мембране перицитов, что способствует развитию сосудистых нарушений. Внедрение вируса в клетку приводит к развитию выраженной дисфункции эндотелия и периваскулярному воспалению, усугубляющему повреждение эндотелия [25; 73; 201]. Угнетение активности ACE2 под действием вируса SARS-CoV-2 стимулирует эндотелиальные повреждения путём нарушения регуляции ренин-ангиотензиновой системы. Вирусное повреждение клеток сопровождается вазоконстрикцией и повышением тонуса сосудов, что приводит к увеличению проницаемости сосудов и усилению воспалительных реакций. Рассматривают и другие механизмы развития ЭД при новой коронавирусной инфекции. Вероятно, активация нейтрофилов, сопровождающаяся высвобождением ферментов и активных форм кислорода, приводит к нарушению структуры гликокаликса и изменению свойств эндотелия и далее к патологической активации ангиогенеза [83; 110; 182]. Выраженное поражающее действие на клетки эндотелия оказывают такие цитокины, как TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитарный хемотаксический протеин-1. Развитие «цитокинового шторма», характерного для тяжелого течения COVID-19, приводит к многочисленным нарушениям, затрагивающим функцию эндотелия. Поражение эндотелия ассоциируется с ростом его проницаемости, также увеличивается синтез и секреция тромбогенных факторов. Все изменения, приводящие к выраженной дисфункции эндотелия, происходят системно и затрагивают одновременно сосуды различных органов и тканей [25; 120]. Одним из общепризнанных маркеров

эндотелиальной дисфункции, лабораторное определение которого широко распространено, является vWF, уровень которого повышается при повреждении эндотелия. vWF представляет собой мультимерный белок, который синтезируется эндотелиальными клетками и мегакариоцитами. В эндотелии vWF депонируется в тельцах Weibel-Palade, из которых под воздействием различных стимулов поступает в субэндотелий и кровь в виде мультимеров с различной молекулярной массой. Синтез и секреция vWF значительно увеличиваются при действии на эндотелий любых повреждающих факторов. Активность vWF зависит от молекулярной массы его мультимеров, чем больше их размеры, тем выше активность фактора. Один из путей регуляции размеров мультимеров и, следовательно, активности vWF обеспечивается посредством действия металлопротеазы ADAMTS-13, которая образуется в печени. ADAMTS-13 при определённых условиях, способствующих изменению конформации vWF, приводит к деградации одной пептидной связи в A2 домене vWF. Мультимеры, образующиеся в результате, обладают меньшим молекулярным весом и меньшей биологической активностью. В циркуляции vWF опосредует адгезию тромбоцитов к коллагену и другим белкам субэндотелия в зоне повреждения сосудистой стенки. Кроме того, vWF является обязательным участником реакции агрегации тромбоцитов в зонах с повышенной скоростью тока крови, способствуя связыванию тромбоцитов друг с другом. Таким образом, в осуществлении первичного сосудисто-тромбоцитарного гемостаза vWF принимает непосредственное участие [4; 40; 50; 51; 71]. vWF также способствует плазменному гемостазу, являясь белком-носителем коагуляционного фактора VIII (FVIII), что защищает последний от деградации активными ферментами, присутствующими в циркуляции. У пациентов с различной тяжестью COVID-19 отмечается повышенный уровень vWF. Это обусловлено как увеличением секреции его мультимеров стимулированными эндотелиальными клетками, так и умеренным снижением активности ADAMTS-13. Повышенное образование больших мультимеров vWF, наряду с относительно недостаточным их расщеплением, вызывает усиление взаимодействия тромбоцитов с сосудистой стенкой и может

приводить к развитию тромботической микроангиопатии, проявляющейся тромбозами микроциркуляторного русла. Относительный дефицит активности ADAMTS-13 ранее был описан при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся высоким уровнем ИЛ-6, что также характерно и для пациентов с инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 [76; 215]. Для новой коронавирусной инфекции характерно повышение уровня vWF и других маркеров эндотелиальной дисфункции. Так, при COVID-19 отмечается высокая концентрация растворимого P-селектина, клеточного рецептора, который участвует в реакциях соединения лейкоцитов с эндотелием, способствуя их экстравазации, и является маркером как эндотелиальной, так и тромбоцитарной активации. Особенно выраженное повышение уровня растворимого P-селектина обнаружено у пациентов с COVID-19, госпитализированных в отделения интенсивной терапии. Для выявления ЭД в последнее время активно используется метод, позволяющий оценить содержание растворимого ТМ в плазме крови. Данный маркер ЭД представляет собой трансмембранный белок, который, связываясь с тромбином, способствует ограничению прокоагулянтных изменений, приводя к деградации факторов коагуляции V и VIII, необходимых для генерации тромбина. В результате активации и повреждения эндотелия ТМ попадает в циркуляцию, образуя растворимый ТМ и приводя к снижению антикоагулянтного потенциала плазмы крови. Некоторыми исследователями отмечено, что повышение уровня растворимого тромбомодулина было связано с увеличением числа летальных исходов у пациентов с COVID-19 [123]. О повреждении эндотелия свидетельствует также число циркулирующих эндотелиальных клеток. Процесс десквамации эндотелиоцитов развивается под действием различных активирующих/повреждающих факторов. Отмечено повышение количества циркулирующих эндотелиальных клеток, особенно при тяжелом течении заболевания. Число циркулирующих эндотелиальных клеток коррелировало с количеством тромбоцитов и лимфоцитов, а также различных молекул клеточной адгезии у пациентов с COVID-19, что указывало на активацию клеток крови [191]. Известно, что медиаторы воспаления запускают экспрессию ТФ, основного

триггера коагуляционного каскада, не только на моноцитах/макрофагах, нейтрофилах, но и на эндотелиальных клетках, свидетельствуя об их активации. Синтез эндотелиальными клетками тканевого и урокиназного активаторов плазминогена (t-PA и u-PA), а также ингибитора данных активаторов (PAI-1) подчёркивает участие эндотелия в процессах фибринолиза, призванного противостоять чрезмерному образованию фибрина.

Таким образом, учитывая важную роль эндотелия в регуляции гемостаза, фибринолиза и проницаемости сосудистой стенки, эндотелиальная дисфункция, формирующаяся прежде всего в микрососудах легких, действует как пусковой механизм для развития иммунотромбоза и коагулопатии, наблюдающихся у больных COVID-19.

1.4.2 Изменения тромбоцитарного звена гемостаза

Тромбоциты являются полноценными участниками как системы гемостаза, так и иммунитета. Появление в циркуляции провоспалительных цитокинов и хемокинов, иммунных комплексов и различных вазоактивных соединений сопровождается активацией тромбоцитов. В то же время в результате активации тромбоциты высвобождают хемокины и цитокины, способствующие регуляции реакций иммунитета [36]. Тромбоциты – высокоспециализированные безъядерные клетки, непосредственно взаимодействующие с эндотелием. Экспрессия эндотелиоцитами антиагрегационных и вазодилататорных субстанций обеспечивает физиологическое интактное состояние тромбоцитов. Однако в случае развития эндотелиальной дисфункции кардинально меняется характер их взаимосвязи. Так, секреция целого ряда веществ таких как фактор, активирующий тромбоциты (PAF), АДФ, адреналин, vWF, которые являются агонистами тромбоцитов, приводит к их активации. Сильнейшим активатором тромбоцитов выступает тромбин, в образовании которого участвует ТФ, синтезируемый клетками эндотелия в случае их повреждения. На поверхности активированного

эндотелия становятся доступны рецепторы и лиганды, взаимодействующие с тромбоцитами (P- и E-селектины, CD40 и CD40L и другие). Активация иммунных реакций и ЭД ассоциируются с гиперактивацией тромбоцитов, которая является одним из отличительных признаков любой вирусной инфекции. Известно, что в процессе активации тромбоциты не только обеспечивают первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, но и принимают непосредственное участие в запуске коагуляционного каскада, предоставляя свою фосфолипидную поверхность для сборки теназных и протромбиназных комплексов, необходимых для генерации тромбина [121; 143]. У части пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением коронавирусной инфекции наблюдается наличие тромбоцитопении. При этом тяжелая тромбоцитопения встречается редко. Снижение количества тромбоцитов может быть связано с нарушениями гемопоэза или повышенным разрушением на периферии, однако некоторые авторы считают, что наибольшее значение имеет потребление тромбоцитов при формировании тромбов в микроциркуляторном русле [155; 170; 218]. Помимо количества тромбоцитов для развития гемостатических реакций большое значение имеют их качественные характеристики, которые в первую очередь обусловлены состоянием рецепторного аппарата данных клеток. У пациентов с COVID-19, особенно на фоне тяжелого и среднетяжелого течения заболевания, отмечается наличие гиперактивации тромбоцитов [169; 212]. Взаимодействие чрезмерно активированных тромбоцитов с эндотелием или субэндотелиальными структурами, опосредованное поверхностными рецепторами, такими как интегрины и селектины, и различными адгезивными белками (vWF, фибриноген, фибронектин, тромбоспондин), нарушает целостность сосудистой стенки и усиливает повреждение эндотелия, что в конечном итоге приводит к обструкции сосудов микроциркуляции. Активированные тромбоциты также играют решающую роль в формировании нейтрофильных ловушек (NETs), которые становятся каркасом для построения тромба. Непосредственно стимулировать образование NETs у пациентов с COVID-19 также могут антифосфолипидные антитела (АФА), которые встречаются и при других инфекциях. Предполагают, что инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-

2, может проявлять синергизм с АФА, что способствует иммунотромботическому процессу. Более высокие титры антифосфолипидных антител были связаны с повышенной активностью нейтрофилов и тромбоцитов у пациентов с COVID-19 [42; 181].

Таким образом, гиперактивация тромбоцитов поддерживает, в том числе за счёт обратных положительных связей, и развитие реакций воспаления, и состояние эндотелиальной дисфункции, и увеличение генерации тромбина.

1.4.3 Микрочастицы плазмы крови

Активация клеток крови и эндотелия за счет воздействия различных стимулов на фоне новой коронавирусной инфекции приводит к образованию прокоагулянтных микрочастиц (МЧ) плазмы крови, появление которых в циркуляции усугубляет тромбовоспалительные изменения (Рисунок 3) [38; 171; 211].

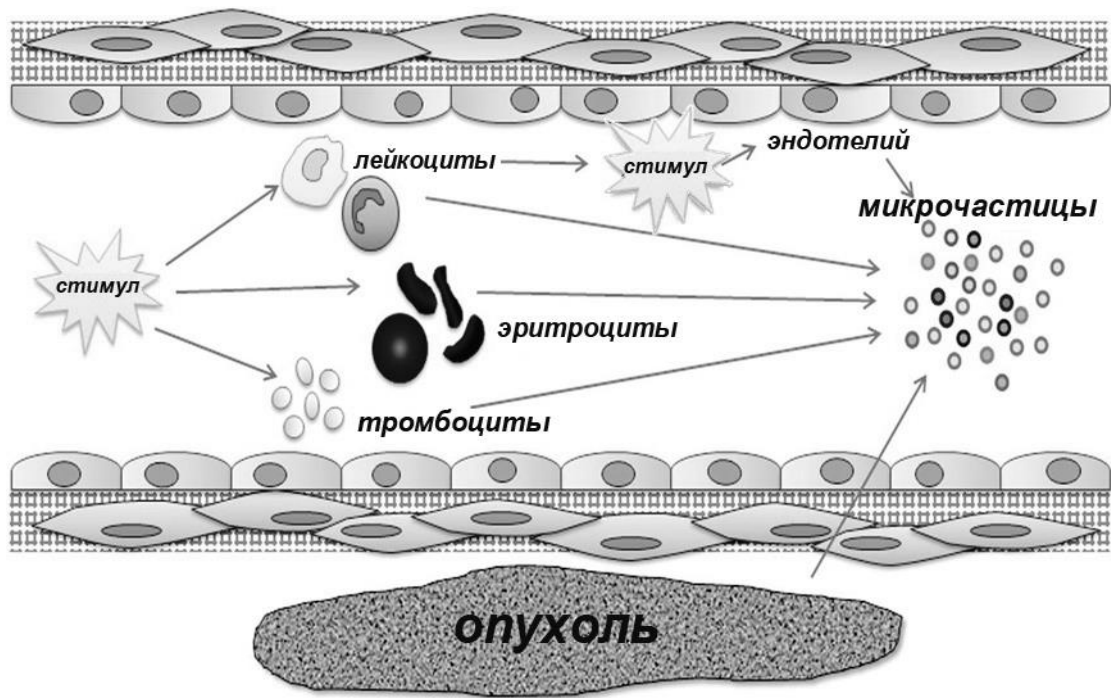


Рисунок 3 – Образование микрочастиц

(Aleman M.M. et al. Journal of Thrombosis and Haemostasis, August 2011)

МЧ плазмы крови – фосфолипидные микровезикулы, размер которых колеблется от 0,1 мкм до 1 мкм. МЧ окружены клеточной мембраной, лишены ядра и значительно различаются по составу антигенных детерминант, которые находятся на их поверхности, что определяется как механизмом образования МЧ, так и характером стимулирующего влияния. МЧ несут на своей поверхности ТФ, который при взаимодействии с активированным фактором VII запускает коагуляционный каскад, в то время как отрицательно заряженные фосфолипиды, экспонированные на поверхности МЧ, в присутствии ионов кальция служат матрицей для сборки прокоагулянтных комплексов и генерации тромбина. На мембране МЧ, помимо фосфолипидов и ТФ, могут быть экспонированы гликопротеиновые рецепторы и молекулы адгезии, за счет чего МЧ могут связываться с адгезивными белками, а также с мембраной нейтрофилов. Данный процесс способствует агрегации лейкоцитов. МЧ плазмы крови образуются при активации или апоптозе различных клеток крови, однако 70-80% общей популяции МЧ в циркуляции состоит из МЧ тромбоцитарного происхождения. Тромбоцитарные МЧ образуются в процессе апоптоза и под действием активирующих стимулов, включая тромбоцитарные агонисты, ионофоры кальция, инфекционные агенты, компоненты комплемента, высокое напряжение сдвига. Считается, что фосфолипидная поверхность тромбоцитарных МЧ плазмы крови обладает прокоагулянтной активностью, которая превосходит таковую активированных тромбоцитов в 50-100 раз [22; 23; 164]. Благодаря малым размерам и высокой подвижности, МЧ могут быть выявлены далеко от места повреждения и их образования, что ведет к распространению прокоагулянтного потенциала в сосудистом русле. Они также могут проникать в уже формирующийся тромб, приводя к еще большему усилению процесса генерации тромбина и тромбообразования. МЧ, благодаря своему строению и биохимическому составу, не только способствуют гемостазу, но и могут участвовать в передаче разнообразных активирующих стимулов при развитии иммунного ответа, воспалительных реакций, тромботических состояний, в том числе и при коронавирусной инфекции [38; 69] (Рисунок 4).

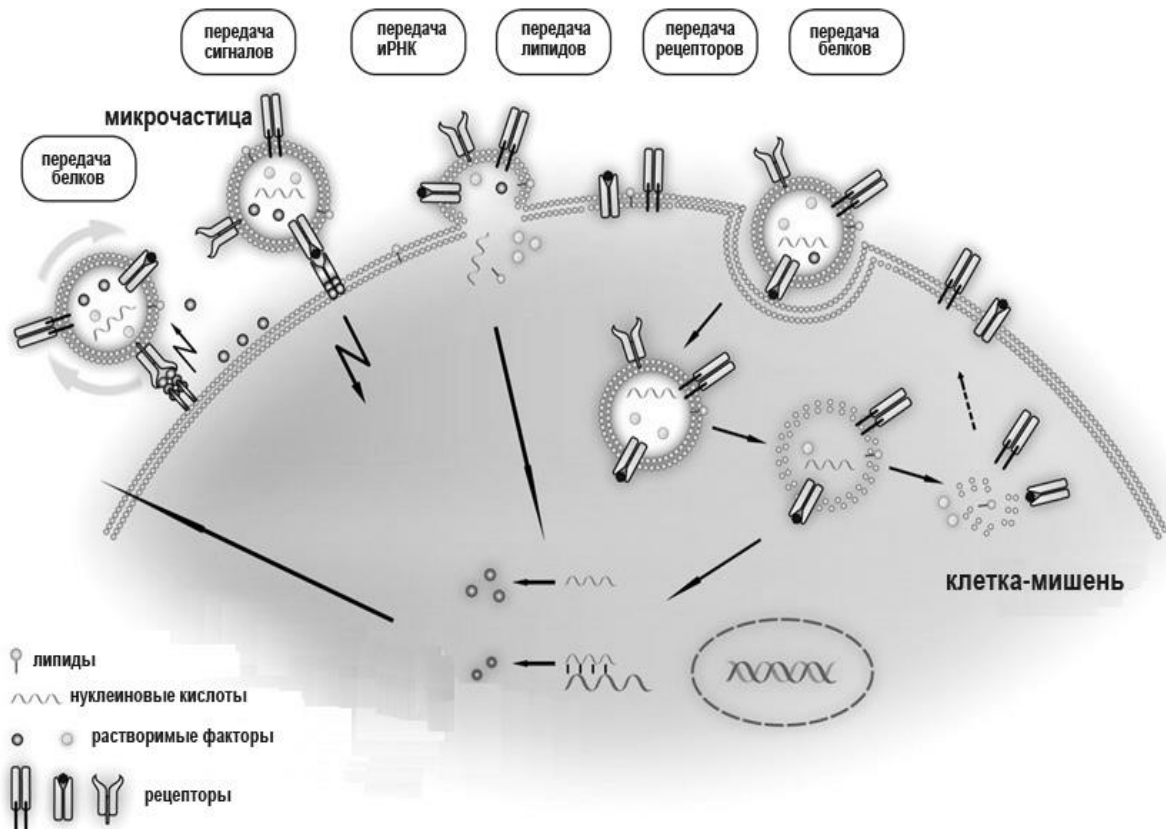


Рисунок 4 – Межклеточные взаимодействия, осуществляемые микрочастицами
(Mause S.F., Weber C. Circulation Research, October 2010)

1.5 Особенности COVID-19-ассоциированной коагулопатии

1.5.1 COVID-19-ассоциированная коагулопатия

В основе развития коагулопатии, ассоциированной с COVID-19 и опосредующей тяжелое течение заболевания с сопутствующими осложнениями, находятся ключевые патогенетические механизмы, к которым можно отнести наличие эндотелиальной дисфункции, активации тромбоцитов, образование МЧ плазмы крови и различных межклеточных взаимодействий.

С самого начала пандемии большой интерес представляли изменения в системе гемостаза у пациентов с COVID-19, возникающие преимущественно при тяжелом течении болезни. Сначала проводили параллель с синдромом

диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром), развитие которого наблюдается на фоне септического течения различных инфекций. Наличие ДВС-синдрома ассоциируется с такими лабораторными признаками как: выраженная тромбоцитопения, увеличение временных показателей протромбинового времени (ПВ) и активированного частичного тромбинового времени (АЧТВ), снижение концентрации фибриногена (ФГ) и активности антитромбина (АТ), а также высокие значения уровня D-димера. Однако дальнейшие наблюдения показали, что гемостатические нарушения при COVID-19, как правило, носят именно прокоагулянтный характер, без формирования коагулопатии потребления, характерной для ДВС, и потенцируют появление таких грозных осложнений, как артериальные и венозные тромбозы [33; 34; 58; 102]. Практически для всех пациентов с новой коронавирусной инфекцией характерно повышение концентрации ФГ – белка острой фазы, которое коррелирует со степенью воспалительного процесса. Изменения данного показателя подтверждают различные пути развития коагулопатии, наблюдаемой при COVID-19 или в случае ДВС-синдрома, для которого характерна гипофибриногемия, ассоциируемая с коагулопатией потребления. Снижение концентрации ФГ отмечается у пациентов с наиболее тяжелым течением коронавирусной инфекции и является неблагоприятным прогностическим фактором и предиктором летального исхода. У больных COVID-19 также имеет место закономерное увеличение активности еще одного белка острой фазы – коагуляционного FVIII, высокие значения которого являются независимым фактором риска развития тромботических осложнений. Как уже было отмечено ранее, содержание и активность vWF, который также является острофазным белком и незаменим как в осуществлении первичного, сосудисто-тромбоцитарного, так и вторичного, коагуляционного, гемостаза, значительно повышены на фоне коронавирусной инфекции, что отражает степень эндотелиальной дисфункции и свидетельствует о гиперкоагуляционном состоянии. Как правило, патологические значения таких скрининговых тестов коагулограммы, как ПВ и АЧТВ, не характерны для пациентов с COVID-19 и встречаются

достаточно редко. Удлинение АЧТВ может быть обусловлено наличием АФА, синтез которых может быть повышен на фоне заболевания. Удлинение протромбинового времени встречается у пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии [108; 123]. Вышеперечисленные особенности состояния плазменного гемостаза свидетельствуют о наличии гиперкоагуляции, ассоциируемой с новой коронавирусной инфекцией.

Значимых изменений системы естественных антикоагулянтов при COVID-19 не наблюдается. Так, некоторые авторы отмечают незначительное снижение АТ, одного из основных естественных антикоагулянтов. Также отмечаются изменения антикоагулянтной системы протеина С, которые выражаются в уменьшении уровня свободного протеина S (PS) и некотором повышении активности протеина С (PC) [137; 141].

Таким образом, на фоне коронавирусной инфекции отмечается повышенное образование тромбина, ключевого фермента гемостаза, преобразующего фибриноген в фибрин – основу тромба. К формированию тромбина приводит последовательная активация факторов свертывания крови в процессе реализации коагуляционного каскада с включением механизмов положительной и отрицательной обратной связи. Система естественных антикоагулянтов ограничивает генерацию тромбина в месте повреждения, не допуская развития генерализованной тромбинемии.

Одним из лабораторных признаков усиления генерации тромбина является высокий уровень D-димера, который представляет собой продукт деградации фибрина, образующийся в результате действия системы фибринолиза [1; 21; 36; 39; 177]. Основным ферментом данной системы является плазмин, формирование которого регулируется как появлением фибрина, так и в значительной мере состоянием сосудистой стенки. Так, активация эндотелия ассоциируется с увеличением синтеза и секреции эндотелиоцитами активаторов плазминогена – неактивного предшественника плазмина. Как плазминоген, так и его активаторы связываются с образующимся фибрином, при этом создаются условия для генерации плазмина. Для действия данного фермента открыты те участки

трёхмерной сети фибрина, которые не участвуют в образовании D-димеров, что и обуславливает их нахождение в циркуляции и позволяет определять их в плазме крови. Таким образом, увеличение содержания D-димера свидетельствует не только об активации фибринолиза, но и о развитии тромбинемии, способствующей фибринообразованию. Повышение концентрации фибриногена и уровня D-димера являются наиболее типичными признаками коагулопатии при COVID-19, что отмечено различными исследователями [17; 102]. Повышение уровня D-димера характерно для большинства пациентов с новой коронавирусной инфекцией и отмечается даже при легком течении заболевания. Данный показатель коррелирует с тяжестью болезни, наиболее высокие показатели его содержания в плазме характерны для пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии, а также отмечаются при неблагоприятном исходе COVID-19 [12; 77; 112]. Увеличение содержания D-димера наблюдается уже на ранних сроках и возрастает на фоне течения заболевания. Рядом исследователей было отмечено, что повышение его в четыре раза относительно верхней границы нормы у госпитализированных больных является предиктором внутригоспитальной летальности с чувствительностью 92,3%. Однако необходимо отметить, что высокие концентрации фибриногена и уровня D-димера не являются специфическими для коронавирусной инфекции и могут наблюдаться при других воспалительных заболеваниях, например, при пневмонии, вызванной различными возбудителями [16; 204].

1.5.2 Лабораторная диагностика COVID-19-ассоциированной коагулопатии

Основными и широко распространенными лабораторными методами диагностики состояния системы гемостаза у пациентов с COVID-19 являются скрининговые тесты коагулограммы и уровень D-димера. В остром периоде заболевания повышенные показатели концентрации ФГ и уровня D-димера свидетельствуют о гиперкоагуляции и активации воспалительного процесса. Однако, особенно на фоне специфической терапии, могут определяться и низкие

значения протромбинового теста по Квику (ПТ), концентрации ФГ, количества тромбоцитов, что указывает на наличие разнонаправленных изменений. Исследование вышеперечисленных отдельных гемостатических показателей зачастую не дает полноценного представления о состоянии системы свертывания крови с учётом взаимодействия всех ее компонентов. В связи с этим большой интерес представляет использование интегральных методов, оценивающих состояние системы гемостаза в целом. Наиболее распространенным из подобных тестов является тромбозластометрия, которая определяет вязкоупругие свойства цельной крови при активации гемостаза экзогенно добавленными триггерами (каолином) и позволяет оценить свойства сгустка. М. Panigada и соавт. показали укорочение временных показателей и повышенную прочность сгустка у пациентов с COVID-19, нуждающихся в интенсивной терапии, что характеризуется как состояние гиперкоагуляции [141; 177]. Также активно для оценки плазменного гемостаза при различной патологии используется другой глобальный метод – тест тромбодинамики, позволяющий регистрировать пространственный рост фибринового сгустка. По результатам ряда исследований данный метод показал свою информативность и у больных с COVID-19 как для оценки гемостатического потенциала, так и эффективности терапии гепарином [192; 210]. Еще одним перспективным интегральным методом является тест генерации тромбина (ТГТ), который дает возможность оценивать не только динамику образования тромбина, но и сохранность баланса про- и антикоагулянтных влияний. Однако исследования Е. Campello и соавт., а также О. Cohen и соавт. не показали значимых отличий параметров ТГТ у больных COVID-19, госпитализированных в отделение интенсивной терапии, и здоровых лиц, что, вероятно, обусловлено назначением данным пациентам антитромботической терапии. Также не было выявлено ассоциации параметров ТГТ с неблагоприятными исходами заболевания [41; 209]. Дальнейший поиск информативных маркеров активации эндотелия и системы гемостаза, а также оптимальных лабораторных методов оценки эндотелиальной дисфункции и коагуляционного потенциала крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией продолжается.

1.5.3 Клинические проявления COVID-19-ассоциированной коагулопатии

Изучение патогенетических механизмов развития и поиск наиболее значимых лабораторных признаков коагулопатии при COVID-19 имеет большое значение для оценки ее клинических проявлений и разработки возможных путей коррекции данного состояния. Протромботические изменения системы гемостаза на фоне новой коронавирусной инфекции обусловлены развитием иммунного ответа, ассоциированного с нарушением функции эндотелия, активацией тромбоцитарного и плазменного гемостаза, что может привести к реализации тромботических событий, которые значительно осложняют течение заболевания и повышают случаи летального исхода [157; 194]. У пациентов с новой коронавирусной инфекцией возможны тромбоэмболические осложнения, которые могут реализоваться как в артериальном, так и в венозном русле. Частота венозных тромбозов превышает таковую артериальных. Венозные тромбоэмболические осложнения (ВТЭО) – собирательное понятие, которое объединяет тромбозы поверхностных и глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК), а также тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА). ВТЭО всегда представляли собой значимую медико-социальную проблему в связи с высокой частотой встречаемости, а также высоким риском инвалидизации и увеличения смертности. Частота ВТЭО составляет примерно 1-2 случая на 1000 населения в год и увеличивается с возрастом независимо от пола. Однако в общей популяции наблюдается более высокая частота ВТЭО у мужчин в сравнении с женщинами [27; 134; 207].

В основе патофизиологии тромбоза лежат принципы, сформированные более 100 лет назад немецким физиологом Рудольфом Вирховым. Он впервые описал основные механизмы образования тромба, к которым отнес повреждение сосуда, артерии или вены, замедление в нем кровотока и активацию системы свертывания крови [24; 124]. Тромбоз представляет собой многофакторный патологический процесс, который, как правило, обусловлен взаимодействием наследственных и приобретенных составляющих. Врожденная предрасположенность связана с

наличием наследственной тромбофилии, а именно, дефицита естественных антикоагулянтов – антитромбина (АТ), протеинов С и S, и мутаций G2021A и G1691A в генах факторов II и V соответственно. К приобретённым факторам относят метаболический синдром, возраст, соматическую патологию, варикозное расширение вен, онкологические и инфекционные заболевания, а также приобретенную тромбофилию, а именно антифосфолипидный синдром. В качестве триггеров тромбогенеза могут выступать беременность, иммобилизация, хирургические вмешательства, травмы, обезвоживание, назначение гормональных препаратов и др. [43; 44; 68].

Данные о встречаемости ВТЭО на фоне новой коронавирусной инфекции у разных исследователей отличаются, однако все отмечают более высокую их частоту при сравнении с другими инфекционными заболеваниями, которые также могут сопровождаться подобными осложнениями. Вариабельность частоты ВТЭО обусловлена различным объемом выборок для исследований, а также сложностью диагностики тромботических осложнений у пациентов, находящихся на ИВЛ или в бессознательном состоянии. Это требует повышенной настороженности относительно развития ВТЭО у пациентов, находящихся на интенсивной терапии, и необходимости выполнения им дуплексного сканирования вен нижних конечностей и КТ-ангиографии с целью выявления тромботических осложнений [105]. Частота ВТЭО увеличивается по мере пребывания в стационаре и значительно повышается при нахождении в отделении интенсивной терапии. Так, по данным различных клинических исследований, частота встречаемости ТГВНК среди госпитализированных больных составляет от 2,9 до 46,1% (в среднем 13%), а ТЭЛА – от 2,8 до 30% (в среднем 8%). У пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии частота ТГВНК увеличивается в среднем до 20%, а ТЭЛА до 18%. При этом отмечается диспропорция между ТГВНК и ТЭЛА. Отсутствие доказанного источника для ТЭЛА у большого числа пациентов свидетельствует в пользу первичного тромбоза легочной артерии на фоне новой коронавирусной инфекции. У пациентов с COVID-19 развитие ВТЭО ассоциируется с

неблагоприятным течением и исходом заболевания. Так, риск смерти у пациентов с COVID-19 и ВТЭО повышается приблизительно в 2-3 раза [37; 108; 146].

Помимо ВТЭО, возможны также тромботические события и в артериальном русле, однако артериальные тромбозы встречаются значительно реже. Взаимосвязь развития острого коронарного синдрома (ОКС) и острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) с перенесенной респираторной инфекцией давно известна [161]. Например, на основании многих исследований было выявлено двукратное увеличение риска острого инфаркта миокарда (ОИМ) на фоне гриппа, причем как в остром периоде, так и после выздоровления [79]. По данным метаанализа, включившим более 60 тысяч пациентов с COVID-19, частота ишемического инсульта составила 1,11%, а согласно другим исследованиям – от 0,9 до 2,7%. Хотя частота инсульта при коронавирусной инфекции не высока, она в 7 раз выше, чем при гриппе. При этом в случае развития ишемического инсульта отмечается значительное ухудшение прогноза заболевания и увеличение летальности (до 36%). У молодых пациентов ведущими факторами формирования ОНМК являются повреждение эндотелия и гиперкоагуляция, характерные для коронавирусной инфекции, тогда как у пожилых пациентов в патогенезе ОНМК большую роль играет наличие предшествующей сердечно-сосудистой патологии [46; 54; 149; 162]. Данные о случаях ОКС на фоне коронавирусной инфекции в литературе немногочисленны. Однако некоторые исследователи отмечают ассоциацию COVID-19 с повышенной частотой ОКС. В первую очередь повышенный риск ОКС обусловлен эндотелиальной дисфункцией и дестабилизацией атеросклеротических бляшек – событиями, которые являются причиной внутрисосудистого тромбоза [32; 52; 107]. По результатам проведенного клинического исследования G.G. Stefanini и соавт. был сделан вывод о том, что COVID-19 не только способствует развитию ОКС, но может манифестировать с ОИМ [197]. Те же патогенетические механизмы, которые обуславливают формирование тромбов в сосудах крупного калибра при COVID-19, ответственны и за тромбообразование в микроциркуляторном русле, что может приводить к нарушению функций различных органов и тканей и осложнять течение

заболевания, а также явиться причиной полиорганной недостаточности в тяжелых случаях [49; 138].

Несмотря на то, что, как правило, коагулопатия при коронавирусной инфекции носит прокоагулянтную направленность, нельзя забывать и о риске геморрагических осложнений, которые также могут присутствовать у пациентов с COVID-19, хотя и значительно реже, чем тромботические проявления. Общая частота геморрагических осложнений при коронавирусной инфекции по данным разных авторов составляет от 4 до 8%, причём примерно половину составляют тяжелые и жизнеугрожающие кровотечения [59]. Тяжелое течение COVID-19 с септическим поражением может быть ассоциировано с развитием ДВС-синдрома в терминальной фазе заболевания. Коагулопатия потребления при ДВС-синдроме сопровождается тромбоцитопенией, гипофибриногемией, дефицитом различных факторов свёртывания и приводит к тяжелым геморрагическим осложнениям. У пациентов с благоприятным течением новой коронавирусной инфекции признаки ДВС-синдрома наблюдались крайне редко, менее 1% наблюдений, тогда как у пациентов с летальным исходом они выявлялись более чем в половине случаев. Тромбоцитопения может быть обусловлена не только потреблением при ДВС-синдроме, но и образованием аутоантител к тромбоцитам и повышенным их разрушением на периферии. Развитие гипофибриногемии также может быть обусловлено как потреблением, так и другими механизмами, например, применением антагонистов рецепторов ИЛ-6, используемых в лечении пациентов с тяжелым течением COVID-19 [55; 77; 115]. Пациенты с врожденными нарушениями гемостаза, такими как болезнь Виллебранда, гемофилия, редкие коагулопатии и тромбоцитопатии, находятся в группе риска по развитию геморрагических осложнений, что в первую очередь связано с назначаемой антитромботической терапией. В то же время, благодаря исходно имеющейся гипокоагуляции, у пациентов с данной патологией реже встречаются тромботические осложнения на фоне COVID-19 [76; 167].

1.6 Методы коррекции нарушений системы гемостаза, ассоциированных с новой коронавирусной инфекцией

Развитие у пациентов с COVID-19 жизнеугрожающих тромбозов обусловило терапевтический подход, основой которого является назначение антикоагулянтных препаратов с целью коррекции нарушений системы гемостаза и профилактики ВТЭО как на фоне острого течения заболевания, так и в период реконвалесценции. Учитывая наличие предпосылок для развития геморрагических осложнений, обязательным является также оценка риска кровотечений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, особенно на фоне назначения антитромботической терапии. В стационаре предпочтение отдается препаратам гепарина, а в амбулаторных условиях – прямым пероральным антикоагулянтам (ПОАК) в профилактических дозировках. Обоснованность назначения антикоагулянтной терапии пациентам с тяжёлым и среднетяжелым течением COVID-19 не вызывает сомнений, тогда как у пациентов с легким течением заболевания остается дискуссионной [7; 14; 37; 189]. На данный момент гепарин в форме нефракционированного (НФГ) или низкомолекулярного гепарина (НМГ) является «золотым стандартом» антитромботической терапии у пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции. Профилактические дозы гепарина были рекомендованы Международным Обществом Тромбоза и Гемостаза (The International Society on Thrombosis and Hemostasis – ISTH) всем пациентам с COVID-19, которым требуется госпитализация, при условии отсутствия противопоказаний. Согласно национальным рекомендациям (версия 16 от 18.08.2022 г.), назначение НМГ или НФГ также показано всем госпитализированным пациентам и должно продолжаться до выписки [14; 150].

В остром периоде предпочтение отдается препаратам гепарина в связи с тем, что они, помимо антикоагулянтного эффекта, обладают целым рядом свойств, позволяющих улучшить исходы заболевания у пациентов с коронавирусной инфекцией. У гепарина отсутствуют потенциальные межлекарственные взаимодействия со специфической терапией, он обладает управляемым

антикоагулянтным эффектом, а также противовоспалительной активностью. Гепарин, который используют в качестве антикоагулянта уже около 100 лет, являясь сульфатированным полисахаридом, представляет собой кофактор АТ, необходимый для его эффективного антикоагулянтного действия. Самостоятельно он незначительно тормозит активность тромбина, однако, связываясь с АТ, усиливает активность последнего в 2000-5000 раз по отношению к активным формам факторов свёртывания IX, X, XI, XII и в первую очередь к тромбину. Поэтому для полноценного антикоагулянтного действия гепарина необходимо достаточное присутствие АТ. НФГ получают путем экстракции и очистки из тканей животных, а НМГ производится посредством деполимеризации НФГ. НМГ в сравнении с НФГ обладают большим периодом полувыведения, обеспечивающим более удобное дозирование, меньшим риском развития кровотечений и гепарин-индуцированной тромбоцитопении, что обуславливает их широкое распространение в клинической практике, в том числе и для профилактики ВТЭО при коронавирусной инфекции [2; 18; 56; 57; 135]. Согласно большинству имеющихся на данный момент рекомендаций, в том числе и национальных, стационарным пациентам с COVID-19 предлагается использование именно профилактических доз НМГ. Дискутабельным является вопрос применения с профилактической целью повышенных (промежуточных) и лечебных доз НМГ, которые, по мнению большинства авторов, могут быть рекомендованы только пациентам с крайне высоким уровнем D-димера (увеличение показателя более чем в 2-3 раза относительно верхней границы нормы), высоким индивидуальным риском ВТЭО или с подозрением на его развитие. После выписки из стационара продленная профилактика у больных с COVID-19 рекомендуется при сохраняющемся повышенном риске ВТЭО и при отсутствии высокого риска кровотечения. При этом нет однозначного мнения относительно длительности пролонгированной профилактики, разными исследователями предлагаются сроки от 1 до 6 недель в зависимости от наличия факторов риска ВТЭО, уровня D-димера и данных ультразвукового ангиосканирования сосудов нижних конечностей. Также антитромботическая профилактика рекомендуется пациентам со среднетяжёлой

формой COVID-19 и высоким риском ВТЭО, которые проходят лечение амбулаторно, не имеют высокого риска кровотечений и не получают антикоагулянты по другим показаниям. Лабораторный контроль, в виде определения анти – Ха активности, при использовании профилактических доз НМГ не требуется и может быть рекомендован только в отдельных случаях, например, у пациентов с почечной недостаточностью, экстремально низкой или высокой массой тела. После выписки пациента на амбулаторном этапе наряду с НМГ могут применяться профилактические дозы ПОАК. Однако, несмотря на использование антитромботической терапии, риск развития ВТЭО у пациентов с COVID-19 сохраняется, что оставляет открытым вопрос назначения повышенных доз антикоагулянтов и необходимости мониторинга их эффективности [13; 14; 119]. ПОАК, прочно вошедшие в практику лечения ВТЭО, нашли еще более широкое применение на фоне пандемии новой коронавирусной инфекции для профилактики тромботических осложнений у пациентов, получающих амбулаторное лечение. К группе ПОАК относятся ингибиторы активного X фактора – ривароксабан и апиксабан, и ингибитор тромбина – дабигатран. Благодаря прямому воздействию на ключевые звенья коагуляционного каскада, данные препараты вызывают эффективное ингибирование образования тромбина и снижение гемостатического потенциала. Преимуществами данных препаратов являются: пероральный прием, фиксированные дозы, ожидаемый антикоагулянтный эффект и отсутствие необходимости лабораторного контроля [61; 65; 190]. Однако использование их в остром периоде заболевания, при наличии доступных препаратов гепарина, не рекомендовано ввиду возможности потенциального межлекарственного взаимодействия со специфической терапией [14; 48].

Если положительный эффект применения антикоагулянтов при COVID-19 не вызывает сомнений, то назначение других препаратов с антитромботическим эффектом остается дискуссионным и не рекомендуется для широкого использования. Однако ведутся исследования, показывающие потенциальную пользу данных препаратов. Так, было проведено рандомизированное, плацебо-

контролируемое исследование, включившее 243 пациента с подтвержденным диагнозом COVID-19, проходивших лечение в амбулаторных условиях. Пациентам назначался сулодексид в дозе 500 ЛЕ 2 раза в день в течение 21 дня. Подобная терапия ассоциировалась со снижением как риска госпитализаций на 40%, так и потребности в кислородной поддержке. Полученные положительные результаты от применения сулодексида, вероятно, связаны с его протективным воздействием на эндотелий. Данный препарат может быть полезен пациентам с COVID-19 и наличием соматической патологии, связанной с развитием дисфункции эндотелия, такой как артериальная гипертензия, сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, сердечно-сосудистое заболевание и др. Применение сулодексида в качестве эндотелиопротектора в амбулаторных условиях перспективно и безопасно, так как не связано с повышением риска геморрагических осложнений [104; 117; 198].

Вопрос применения антиагрегантных препаратов пациентам с коронавирусной инфекцией остается дискуссионным, однако доказательств целесообразности их широкого применения на данный момент нет. Предшествующими исследованиями была показана малая эффективность антиагрегантов для снижения риска развития ВТЭО, которые и являются одними из основных осложнений COVID-19 [85; 86]. К настоящему времени убедительных доказательств необходимости применения антиагрегантов, в частности, препаратов ацетилсалициловой кислоты, при лечении COVID-19 нет в связи с отсутствием рандомизированных исследований, которые бы показали преимущество добавления антиагрегантов к профилактической дозе гепарина в сравнении с использованием только антикоагулянтов [14]. Артериальные и венозные тромбозы традиционно рассматриваются как состояния с разными патофизиологическими механизмами, что подтверждается различиями в факторах риска и структурах тромбов. Антикоагулянты в настоящее время используются для профилактики и лечения ВТЭО, а антиагреганты для профилактики и лечения артериального тромбоза. Однако, несмотря на меньшее присутствие тромбоцитов в структуре венозных тромбов, они играют значимую роль в их развитии. В связи

с этим антиагреганты, вероятно, могут быть полезны для профилактики ВТЭО, в частности, вторичной. Исследования для оценки эффективности антиагрегантных препаратов в профилактике ВТЭО продолжаются [91; 188]. Рандомизированное контролируемое исследование, проведенное группой авторов в 2022 г., не показало улучшения исходов заболевания или снижения частоты ВТЭО у пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции при добавлении к стандартной терапии препаратов ацетилсалициловой кислоты [87]. Однако низкие дозы аспирина могут быть полезны для профилактики артериальных тромбозов пациентам с COVID-19 и с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений. В данном случае решение о назначении антиагрегантов должно приниматься в индивидуальном порядке с оценкой риска как тромботических осложнений, так и кровотечений, и с учётом приема антикоагулянтных препаратов [184].

Таким образом, общепринятым терапевтическим подходом при лечении пациентов в остром периоде COVID-19 является назначение профилактических доз препаратов гепарина с целью коррекции прокоагулянтных изменений и профилактики ВТЭО. Данная тактика позволяет снизить частоту ВТЭО и улучшить исходы заболевания. Назначение высоких профилактических или лечебных доз гепарина вызывает сомнения и не входит в клинические рекомендации по ведению больных с коронавирусной инфекцией. Применение других антикоагулянтов в остром периоде не рекомендовано при наличии препаратов гепарина. Пролонгированная антитромботическая терапия показана только для отдельных групп с высоким риском развития ВТЭО. Использование других препаратов с антитромботическим действием рекомендуется только при наличии показаний, и назначение проводится в строго индивидуальном порядке.

1.7 Постковидный синдром

Большое количество исследований направлено на изучение патогенеза, клинических проявлений, лечения и осложнений COVID-19 в остром периоде заболевания. Однако уже с начала пандемии появились данные о наличии

отсроченных нарушений, которые могут проявляться после перенесенной новой коронавирусной инфекции. Сохранение иммунологических, гематологических и сосудистых изменений в отдалённом после болезни периоде представляет большую проблему. Известно, что в течение шести и более месяцев после выздоровления могут наблюдаться проявления постковидного синдрома при сохранении дисбаланса в иммунологических показателях [145; 173; 174]. Термины “длительный COVID”, “Long-COVID”, постковидное состояние или постковидный синдром начали широко использоваться с 2020 г. для описания различных симптомов, сохраняющихся либо проявляющихся через несколько недель или месяцев после заражения вирусом SARS-CoV-2 независимо от вирусного статуса. В настоящее время данное состояние после перенесенного COVID-19 имеет официальное название PASC (post-acute sequelae of COVID-19), которое включено в Международную классификацию болезней МКБ-10 (код U09.9) [15]. Частоту постковидного синдрома достаточно сложно оценить в силу гетерогенности симптомов, но большинство исследователей сходятся во мнении, что у каждого пятого человека отмечаются симптомы, которые сохраняются в течение пяти недель, а у каждого десятого – 12 недель или дольше после острой стадии COVID-19. Отмечаются случаи, когда такое состояние длится шесть, двенадцать месяцев, а у части пациентов и больше года [88; 90; 174]. Демографические данные показывают более высокую распространенность и тяжесть постковидного синдрома у женщин, с преобладанием неврологической симптоматики [158]. Основываясь на хроническом течении симптомов после заражения COVID-19, A. Nalbandian и соавт. классифицируют постковидное состояние как подострые или персистирующие симптомы COVID-19, когда они сохраняются до 12 недель от начального острого эпизода, или хронический пост-ковидный синдром (симптомы сохраняются более 12 недель, однако они не должны быть связаны с альтернативным диагнозом) [174].

Четкого и однозначного понимания патогенеза постковидных нарушений и их клинических проявлений на данный момент нет. Предполагается мультифакторная природа изменений с вовлечением многих органов и тканей,

обусловленная последствиями связывания вируса SARS-CoV-2 с рецептором ACE2, нарушениями регуляции иммунитета и стимуляции гипервоспалительных и гиперкоагуляционных изменений. К факторам риска длительного COVID-19 относят возраст старше 50 лет, избыточную массу тела и ожирение, бронхиальную астму и наличие более пяти симптомов (кашель, усталость, головная боль, диарея, потеря обоняния, потеря вкуса) в начале заболевания [66; 174]. Одну из ведущих ролей в развитии постковидного синдрома играют иммунные нарушения. Предполагается, что отсроченные последствия влияния вируса SARS-CoV-2 на иммунную систему обусловлены длительно поддерживаемой её активацией, наблюдаемой даже после легкой формы COVID-19, которая может способствовать развитию аутоиммунных реакций и/или патологий нервной и сердечно-сосудистой систем [173]. Вероятно, большое значение имеет возможность вирусного повреждения центральной нервной системы (ЦНС), так как было обнаружено присутствие РНК вируса SARS-CoV-2 в различных областях носоглотки и головного мозга. Это приводит к локальному ответу в ЦНС, опосредованному HLA-DR-иммунореактивными микроглиальными клетками как эффекторами миелоидного воспалительного ответа. Данный врожденный иммунный ответ коррелирует с изменениями в спинномозговой жидкости, где обнаруживается повышение уровня медиаторов воспаления. Вирус SARS-CoV-2, по-видимому, тропен к нейроанатомическим структурам, проникает в определенные области, включая первичный центр управления дыханием и сердечно-сосудистой системой в продолговатом мозге. Данный механизм проникновения, вероятно, обуславливает наличие определенных симптомов в остром периоде, например, anosмии, агевзии, головной боли и головокружения. Данные симптомы сохраняются и после выздоровления и могут появляться новые, такие как когнитивные расстройства, тревога, апатия, панические атаки, эмоциональная нестабильность [160]. Также в развитии постковидного синдрома предполагается роль хронического иммунного воспалительного процесса и повреждения эндотелия с вовлечением микрососудов. Ряд исследований показал, что вирус SARS-CoV-2 обладает способностью

длительно находиться в макрофагах, создавая патогенетические предпосылки для долгосрочной сохранности симптомов [5; 101; 140; 165].

Таким образом, в развитии постковидного синдрома вероятна роль следующих патофизиологических факторов: вирус-специфические изменения, иммунологические реакции, воспалительное повреждение в ответ на острую инфекцию, аутоиммунные нарушения, а также дисфункция вегетативной регуляции вследствие нарушений центральной и периферической нервной системы [53]. В разных странах проведен ряд исследований с целью определения круга симптомов, сохраняющихся после перенесенного заболевания, и их длительности. Ретроспективное когортное исследование, проведенное в Великобритании, показало, что из 47 тысяч пациентов, выписавшихся из стационаров после острого COVID-19, треть была госпитализирована вновь в течение 140 дней после выписки. У пациентов, выписанных из больницы после COVID-19, наблюдалось увеличение частоты дисфункции различных органов и систем по сравнению с ожидаемым риском в общей популяции [175]. Наблюдение 143 пациентов с COVID-19 показало наличие признаков интерстициальной пневмонии у 72,7% больных во время госпитализации. Опрос пациентов по прошествии 60-70 дней после появления первого симптома коронавирусной инфекции выявил, что только 12,6% больных не имели никаких симптомов заболевания, тогда как у половины пациентов отмечали три и более симптомов, а у 32% сохранялись один-два симптома. Признаков, указывающих на наличие острой инфекции, таких как повышение температуры тела, интоксикационный синдром, респираторные проявления, не наблюдалось ни у одного пациента. При этом более 40% пациентов данной группы отметили снижение качества жизни относительно состояния до заболевания. Наиболее часто отмечали такие симптомы, как усталость (53,1%), одышка (43,4%), боль в суставах (27,3%) [94]. В крупном когортном исследовании, проведенном в Китае и включавшем 1773 пациента, были получены сходные результаты. У пациентов в течение длительного времени (период наблюдения составлял 6 месяцев) сохранялись патологические симптомы, такие как нарушения сна, слабость, утомляемость, когнитивные нарушения,

депрессивное расстройство [158]. Московским городским научным обществом терапевтов в 2020 г. был проведен опрос 1400 пациентов, перенесших COVID-19, для формирования «образа постковидного синдрома», который позволил сформулировать 29 его основных симптомов. Чаще всего у пациентов отмечалась слабость, периодическое повышение температуры тела и неврологическая симптоматика. Так, у 50% опрошенных наблюдались нарушения сна, у 45% – признаки депрессии и у 43% – головная боль, 36% пациентов испытывали проблемы с дыханием. Наличие после перенесенного заболевания симптомов, указывающих на наличие бронхолегочной патологии, является ожидаемым в связи с превалирующим поражением органов дыхания в остром периоде COVID-19. У 20-60% госпитализированных пациентов после выписки обнаруживаются фиброзные, интерстициальные изменения и бронхоэктазы, что ассоциировано с развитием рестриктивных заболеваний легких. Также часто встречаются симптомы, связанные с патологией сердечно-сосудистой системы, такие как боль в груди и чувство нехватки воздуха, нарушения сердечного ритма, повышение или понижение артериального давления, кожные высыпания, характерные для васкулита [11; 75; 176]. Известно, что на фоне COVID-19 ухудшается течение уже имеющейся сердечно-сосудистой патологии, которая сама по себе является фактором риска неблагоприятного течения и исхода новой коронавирусной инфекции. Однако на данный момент имеются доказательства негативного влияния COVID-19 на развитие сердечно-сосудистых заболеваний *de novo*, в том числе нарушений ритма, миокардиальных повреждений, перикардитов, а также артериальных и венозных тромботических событий. Важным является то, что сердечно-сосудистые осложнения часто манифестируют уже после стабилизации респираторного статуса больного или даже в отсроченном периоде [30; 63; 113].

Прокоагулянтные изменения, характерные для острого периода COVID-19, описаны в многочисленных исследованиях, результаты которых широко представлены в научной литературе. В то же время состояние системы гемостаза после перенесенной коронавирусной инфекции изучено меньше. Гипоксия, повреждение эндотелия, активация тромбоцитов, экспрессия провоспалительных

цитокинов приводят к активации системы гемостаза и высокому риску ВТЭО в остром периоде COVID-19. Как продолжительность, так и тяжесть этого гипервоспалительного и прокоагулянтного состояния могут способствовать риску тромботических осложнений и после перенесенного COVID-19, что подтверждается особенностями клинического состояния пациентов в периоде реконвалесценции. Отдельные клинические наблюдения отмечают сохранение гиперкоагуляционных изменений, которые способствуют возникновению отсроченных тромботических осложнений у пациентов после выздоровления, когда вирус SARS-CoV-2 не выявляется. При этом вопрос необходимости назначения анти тромботической терапии в период реконвалесценции и/или при наличии симптомов постковидного синдрома остается дискуссионным. Это свидетельствует о важности дальнейшего изучения клинических особенностей, характерных для пациентов в период выздоровления, а также выяснения патофизиологических механизмов и оценки тяжести выявленных нарушений, что будет способствовать своевременному выявлению риска развития тромботических осложнений и определению необходимости назначения анти тромботической терапии [67; 70].

Таким образом, на сегодняшний день достаточно хорошо изучены патогенетические механизмы развития новой коронавирусной инфекции, особенно изменения иммунной системы. Не оставляет сомнений важность прокоагулянтных изменений системы гемостаза в развитии тромботических осложнений и необходимость назначения пациентам в остром периоде заболевания анти тромботической терапии. Однако требуют уточнения изменения системы естественных антикоагулянтов, клеточного звена гемостаза, в частности относительно роли МЧ плазмы крови в развитии прокоагулянтных изменений. Продолжается дискуссия о дозировании антикоагулянтных препаратов пациентам в остром периоде заболевания, необходимости и длительности их назначения после перенесенного заболевания, а также методах контроля их эффективности. С учетом вышесказанного представляется целесообразным дальнейшее углубленное изучение системы гемостаза с применением различных методов исследований, в

том числе и интегральных, что позволит оптимизировать как обследование пациентов с COVID-19, так и назначение им антитромботической терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика обследованной группы пациентов

В рамках данной работы было обследовано 279 человек, находящихся в остром периоде COVID-19 или перенесших заболевание. У всех пациентов, вошедших в исследование, новая коронавирусная инфекция была подтверждена положительным результатом лабораторных тестов (полимеразная цепная реакция для выявления РНК вируса SARS-CoV-2). 163 человека с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания были обследованы в остром периоде во время госпитализации в отделение интенсивной терапии ГБУЗ Ленинградской области «Всеволожская Клиническая Межрайонная Больница». В данную группу были включены 78 мужчин и 85 женщин в возрасте от 35 до 90 лет, медиана возраста составила 69 лет. Объем поражения легких у данных пациентов составлял более 25% (по данным компьютерной томографии степень поражения 2-3-4). Значительное поражение легких и коморбидность пациентов обуславливали тяжесть течения заболевания. У большей части обследованных пациентов наблюдалось наличие хронической патологии, в первую очередь затрагивающей сердечно-сосудистую систему. Чаще всего наблюдались такие заболевания, как гипертоническая болезнь (ГБ), кардиосклероз, цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), ишемическая болезнь сердца (ИБС) и хроническая сердечная недостаточность (ХСН). Реже встречался сахарный диабет 2-го типа (СД 2), патология бронхолегочной системы, заболевания почек и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), ожирение. Распространенность данных заболеваний в группе пациентов с острым течением заболевания представлена на Рисунке 5.

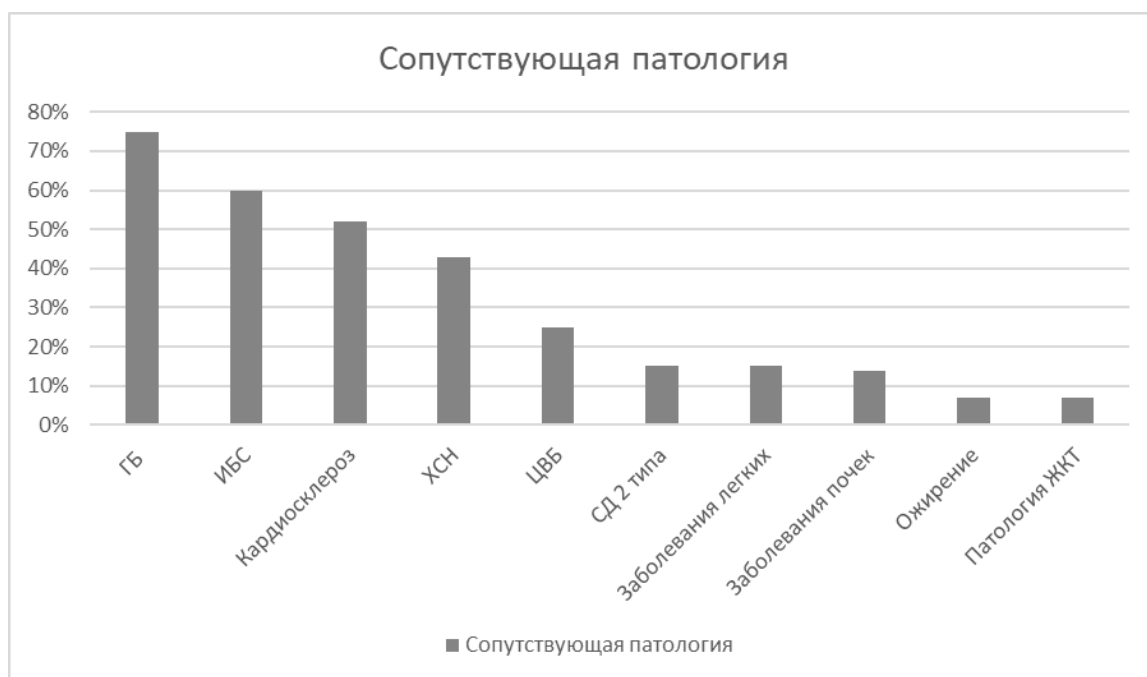


Рисунок 5 – Распространенность хронической патологии у пациентов с острым COVID-19

Для улучшения маршрутизации пациентов при поступлении в стационар проводилась оценка общего состояния каждого больного при помощи шкалы «раннего предупреждения» (англ. National Early Warning Score, NEWS). Данная шкала была разработана в Великобритании в 2012 г. как для первичной, так и для динамической оценки тяжести состояния пациентов и прогнозирования течения острого периода заболевания. Шкала NEWS имеет наибольшую информационную ценность в прогнозе неблагоприятного исхода у пациентов приемного отделения независимо от наличия у них инфекционного очага. Высокий балл, полученный по данной шкале (более или равно 7), как правило, требует направления пациента в отделение интенсивной терапии [64]. После поступления в стационар всем пациентам на начальном этапе назначалась терапия, включающая антибактериальные, антикоагулянтные, гормональные и симптоматические препараты, а также инфузионные растворы. Для антитромботической терапии, согласно методическим рекомендациям, использовали препарат НМГ – эноксапарин натрия. Всем пациентам данный препарат назначался в дозе 0,8 мл в

сутки, независимо от веса. Несмотря на отсутствие необходимого расчёта дозы по весу, для большинства пациентов она представляла собой высокую профилактическую (частота встречаемости ожирения 1-3 степени составляла 7%, дефицит массы тела не наблюдался). Препараты антиагрегантного действия, содержащие ацетилсалициловую кислоту (АСК) или клопидогрел, получал 21 человек, т.е. 12% от общего числа обследованных пациентов. Данные препараты пациенты принимали до госпитализации на постоянной основе ввиду наличия сердечно-сосудистой патологии и высокого риска ССО. В группе пациентов с острым течением заболевания на протяжении пребывания в стационаре было диагностировано 6 эпизодов ВТЭО (ТГВНК и ТЭЛА) и 14 эпизодов артериального тромбоза, проявившихся как ОНМК по ишемическому типу и ОИМ. Таким образом, общая частота тромботических осложнений в данной группе пациентов составила 12,5%, частота ВТЭО – 3,7%, артериальных тромбозов – 8,8%. Среди всех обследованных больных отмечен только один случай развития геморрагических осложнений у пациента с тромбоцитопенией легкой степени тяжести (количество тромбоцитов – $91 \times 10^9/\text{л}$). У большей части пациентов (123 человек, 75%) количество тромбоцитов оставалось в пределах нормальных значений. У 40 пациентов (25%) было отмечено снижение числа тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$, однако тяжелая тромбоцитопения со снижением количества тромбоцитов до $25 \times 10^9/\text{л}$ отмечалась только у одного пациента. У 43 пациентов заболевание закончилось летальным исходом, общая летальность составила 26%. При этом количество летальных исходов увеличивалось при снижении количества тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$, так, у пациентов без тромбоцитопении летальность была 18,6%, а у лиц с наличием таковой 48,7%.

Взятие образцов для исследования системы гемостаза осуществляли при поступлении пациентов и до назначения терапии в стационаре. У определенной группы пациентов, в которую были включены 56 человек, исследование гемостатических показателей также проводили в динамике, на фоне приема антикоагулянтных препаратов, на 3-5 и на 8-10 сутки пребывания в стационаре.

Критерии включения в группу пациентов с острым течением COVID-19: возраст старше 18 лет, новая коронавирусная инфекция, подтвержденная положительным результатом лабораторного исследования на наличие РНК вируса SARS-CoV-2, тяжелое или среднетяжелое течение заболевания, госпитализация в отделение интенсивной терапии стационара.

Критерии невключения в группу пациентов с острым течением COVID-19: возраст менее 18 лет; наличие в анамнезе или на момент обследования онкологического заболевания, ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, патологии печени с нарушением ее функции, заболеваний почек с изменением скорости клубочковой фильтрации, прием каких-либо препаратов антикоагулянтного действия на постоянной основе до начала заболевания.

Также было обследовано 116 человек, перенесших коронавирусную инфекцию различной степени тяжести. Срок после выписки из стационара и/или клинического выздоровления до момента проводимого обследования составлял от одного до пяти месяцев. В данной группе у 39 пациентов заболевание протекало в легкой форме и лечение проводилось амбулаторно, а у 77 человек наблюдалась коронавирусная инфекция тяжелой и среднетяжелой степени, которая потребовала госпитализации в стационар в остром периоде заболевания.

Группа пациентов, перенесших тяжелую и среднетяжелую формы COVID-19, включала 28 мужчин и 49 женщин в возрасте от 24 до 84 лет, медиана возраста составила 59 лет. Так же, как и у пациентов с острым течением заболевания, у обследованных пациентов данной группы наблюдалось наличие хронических заболеваний, на первом месте по распространенности находилась сердечно-сосудистая патология. Наиболее часто встречалась ГБ 2-3 ст., в большинстве случаев в сочетании с ИБС. Распределение сопутствующих заболеваний в группе пациентов, перенесших COVID-19, представлено на Рисунке 6.

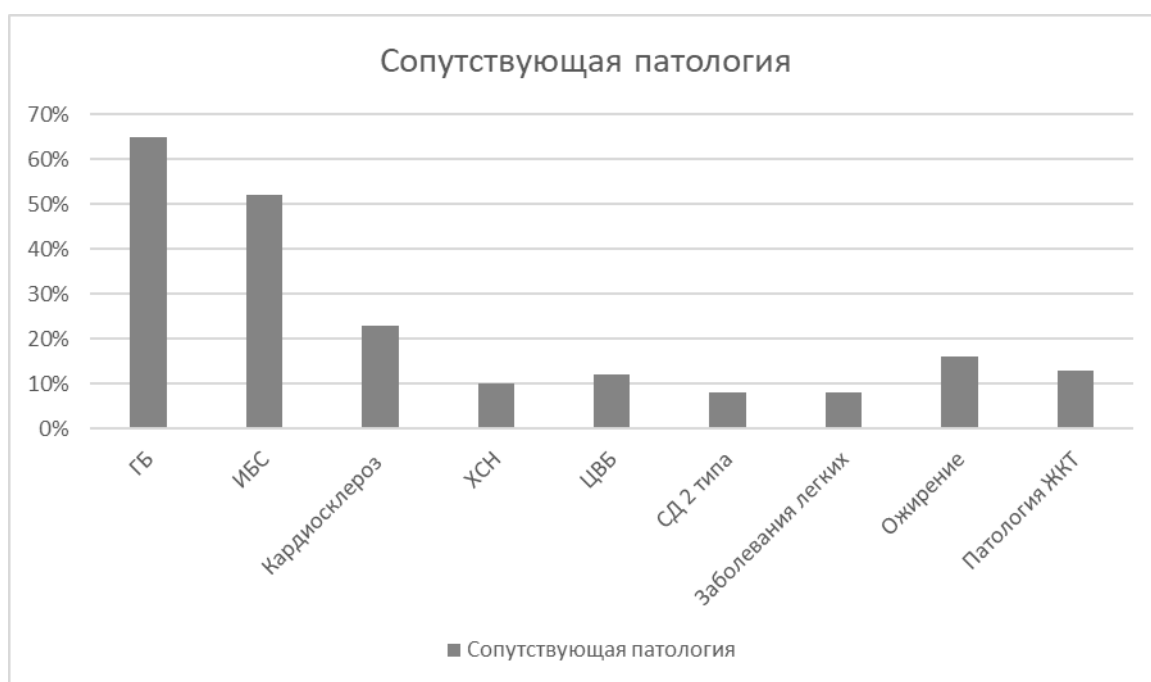


Рисунок 6 – Распространенность хронической патологии у пациентов, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме

Более половины пациентов данной группы (56%) получали на момент обследования антикоагулянтные препараты группы ПОАК (23 человека получали ривароксабан, 16 – апиксабан, 4 – дабигатран). Остальные пациенты (44%) получали антикоагулянтную профилактику в периоде реконвалесценции, однако к моменту обследования уже закончили прием антикоагулянтов, треть из них (31%) принимала антиагрегантные препараты, содержащие АСК. Общая частота тромботических осложнений у пациентов данной группы составила около 21%, у 13 человек развились ВТЭО (ТГВНК, ТЭЛА, тромбоз яремной вены, тромбоз нижней полой вены), у трех человек наблюдались артериальные события (ОНМК, тромбоз пальцевых артерий). Таким образом, частота ВТЭО составила 16,8%, артериальных событий – 3,9%. Всем пациентам с развившимися ВТЭО были назначены антикоагулянтные препараты в лечебных дозировках, которые они получали не менее трех месяцев после перенесенного тромбоза согласно клиническим рекомендациям. В данной группе пациентов, перенесших COVID-19,

не наблюдались геморрагические осложнения, случаев тромбоцитопении выявлено не было.

В группу пациентов, которые перенесли заболевание в легкой форме, было включено 39 человек, среди которых было 11 мужчин и 28 женщин в возрасте от 24 до 81 года (медиана возраста 45 лет). Частота встречаемости соматической патологии в данной группе была значительно ниже, чем у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания. Так, наличие ГБ и ожирения было отмечено только у 13% и 10% пациентов соответственно, у 5% обследованных имели место заболевания бронхолегочной системы. В связи с легким течением заболевания терапия пациентов данной группы носила в основном симптоматический характер, антитромботическая профилактика не назначалась. Два человека принимали на постоянной основе препараты, содержащие АСК, назначенные ранее ввиду наличия сердечно-сосудистой патологии. Тромботических осложнений в данной группе пациентов отмечено не было.

Критерии включения в группу пациентов, перенесших COVID-19: возраст старше 18 лет, перенесенная новая коронавирусная инфекция различной степени тяжести, подтвержденная положительным результатом лабораторного исследования на наличие РНК вируса SARS-CoV-2, срок от начала заболевания до момента проводимого обследования от одного до шести месяцев.

Критерии невключения в группу пациентов, перенесших COVID-19: возраст менее 18 лет; наличие в анамнезе или на момент обследования онкологического заболевания, ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, патологии печени с нарушением ее функции, заболеваний почек с изменением скорости клубочковой фильтрации, приём антикоагулянтных препаратов на постоянной основе до заражения новой коронавирусной инфекцией.

Ретроспективная оценка распределения пациентов по группам крови по системе АВО была проведена у 865 человек, перенесших коронавирусную инфекцию различной степени тяжести.

Контрольную группу составили 68 практически здоровых лиц, которые были сопоставимы по полу и возрасту с обследованными пациентами. Критерии

включения в контрольную группу: возраст старше 18 лет, отсутствие значимой соматической патологии и заболевания COVID-19 в анамнезе, а также приема на постоянной основе каких-либо лекарственных препаратов. Показатели плазменного гемостаза контрольной группы, используемые для статистического анализа в сравнении с результатами, полученными у обследованных лиц с COVID-19, не выходили за пределы референтных интервалов, представленных в Таблице 1 и применяемых в практической работе клинико-диагностической лаборатории учреждения.

Таблица 1 – Референтные значения показателей плазменного гемостаза ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России

Показатель	Референтные значения
иАПТВ	0,8 – 1,1
ПТ, %	86,0 – 114,0
ФГ, г/л	1,8 – 4,0
FVIII, %	58,0 – 180,0
vWF, %	54,0 – 153,0
Аг. vWF, %	55,0 – 165,0
D-димер, нг/мл	<243
АТ, %	80,0 – 120,0
РС, %	75,0 – 127,0
PS, %	57,0 – 112,0

2.2 Преаналитическая подготовка

На первоначальном этапе для проведения дальнейших лабораторных исследований получали образцы периферической венозной крови путем пункции локтевой вены. Образцы, полученные из катетера, исключались из исследования, в связи с вероятностью попадания гепарина в пробу и искажения результатов

коагулологических тестов. Стабилизация венозной крови цитратом натрия отличалась в зависимости от вида исследования. Так, оценка плазменного звена гемостаза осуществлялась в образцах крови, стабилизированных 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1, определение параметров генерации тромбина – в образцах, стабилизированных 3,2% раствором цитрата натрия в том же соотношении, для исследования агрегации тромбоцитов использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 4:1. Все дальнейшие исследования проводили в образцах плазмы крови, которые получали путем центрифугирования, используя разные режимы в зависимости от вида исследования. Получение богатой тромбоцитами плазмы (platelet-rich plasma, PRP) осуществляли путем центрифугирования образцов крови в течение 10 мин при ускорении 120 g и температуре +22°C. В образцах PRP исследовали агрегацию тромбоцитов, также часть данной плазмы подвергалась дальнейшему центрифугированию. Для получения бедной тромбоцитами плазмы (platelet-poor plasma, PPP) PRP центрифугировали в течение 30 мин при ускорении 2500g и температуре +22°C. PPP использовали в дальнейшем для определения показателей скрининговой коагулограммы, активности протеина С, уровня свободного протеина S, активности антитромбина, содержания и активности фактора Виллебранда, выполнения ТГТ в стандартной постановке с использованием ТМ, а также для калибровки уровня 100% светопропускания при агрегатометрии. Для определения коагуляционной активности МЧ использовали образцы плазмы свободной от тромбоцитов (platelet-free plasma, PFP), которые получали с помощью дополнительного центрифугирования PPP в течение 5 мин при ускорении 14000g и температуре +22°C. Для изучения характеристик МЧ на проточном цитофлуориметре PPP центрифугировали при температуре +22°C в течение 30 мин при ускорении 14000g. Из образцов, полученных после высокоскоростного центрифугирования, аспирировали супернатант и забирали осадок, который ресуспендировали путем добавления 100 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ), полученную взвесь МЧ использовали для дальнейшего исследования. До момента

проведения исследования полученные образцы плазмы крови для выполнения ТГТ хранили в пластиковых пробирках «Эппендорф» при температуре - 70°C.

2.3 Методы исследования

Основные показатели, характеризующие плазменный гемостаз, к которым относятся ПТ, концентрация ФГ, индекс АПТВ (иАПТВ), активность FVIII, vWF, PC и AT, а также содержание свободного PS, антигена vWF и уровня D-димера, определяли на автоматических коагулометрах серии ACL: ACL Top 300 CTS и ACL Elite Pro (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, США), согласно прилагаемой инструкции производителя с использованием реагентов HemosIL (Instrumentation Laboratory, США). Для определения иАПТВ, ПТ, ФГ, а также активности FVIII использовали клоттинговые методы, основанные на определении времени образования сгустка после запуска коагуляционного процесса с помощью специфических реагентов. Для определения концентрации vWF и свободного PS использовали иммунотурбидиметрический метод, основанный на изменении светопропускания в образце плазмы, что обусловлено агглютинацией латексных частиц, которые связываются с антигенами исследуемого белка. Концентрация определяемого протеина прямо пропорциональна степени агглютинации. Активность таких антикоагулянтов, как AT и PC, определяли хромогенным методом. Данная методика исследования основана на расщеплении в образце специфическим ферментом хромогенного субстрата, в результате этого снижается концентрация субстрата, изменяется цвет реакционной смеси и поглощение света, которое пропорционально активности исследуемого фактора. Определение концентрации гомоцистеина (ГЦ) проводили на анализаторе ACL Top 300 CTS методом автоматической латексной иммуноагглютинации. На первом этапе происходит редукция дисульфидных и протеин-связанных форм ГЦ с образованием свободного ГЦ, на втором – соединение свободного ГЦ с аденозином, на третьем – реакция агглютинации полученного соединения с конъюгатом, при этом степень агглютинации обратно

пропорциональна концентрации ГЦ. Измерение активности vWF базировалось на определении его ристоцетин-кофакторной активности. В данном исследовании используются формализированные нормальные тромбоциты, которые агглютинируют в результате взаимодействия vWF исследуемого образца с одним из тромбоцитарных рецепторов, гликопротеиновым комплексом GPIb-IX-V. Степень агглютинации прямо пропорциональна активности vWF в образце и определяется по изменению светорассеяния, обусловленного агрегацией тромбоцитов.

Функциональную активность тромбоцитов определяли методом индуцированной агрегации по Борну на 4-х канальном анализаторе агрегации тромбоцитов АТ-02 (НПФ «Медицина-Техника», Россия). Принцип данного метода заключается в регистрации изменений светопропускания суспензии тромбоцитов при добавлении агентов, вызывающих агрегацию тромбоцитов. В качестве индукторов агрегации использовали коллаген в концентрации 2 мкг/мл, АДФ в концентрациях 1 мкмоль и 5 мкмоль производства компании CHRONOLOG Corporation, США. После добавления индукторов проводили запись кривых агрегации тромбоцитов и определяли максимальную амплитуду агрегации (МА, %). Оценка функциональной активности тромбоцитов проводилась только в группе пациентов, перенёсших заболевание, в связи с отсутствием технической возможности соблюдения требований преаналитического этапа для проведения данного исследования у пациентов в острой стадии заболевания, находящихся в отделении интенсивной терапии инфекционного стационара, предназначенного только для больных COVID-19.

Методом проточной цитометрии определяли субпопуляции лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, HLA-DR, CD19+, активированных Т-клеток и Т-регуляторных клеток (Treg). Уровень общих сывороточных иммуноглобулинов классов G, A и M определяли методом турбидиметрии, а циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) низкой (ЦИКнизк) и средней (ЦИКсредн) молекулярной массы – методом измерения оптической плотности.

Определение групп крови по системе АВО проводили согласно требованиям нормативных документов перекрестным методом с использованием стандартных эритроцитов А(II) и В(III) групп и моноклональных антител анти-А, анти-В в гелевом тесте с использованием микроцентрифуги и диагностических карт АВО/D+reverse grouping (BIO-RAD, Швейцария). Учет результатов исследования производили визуально. Реакция гемагглютинации происходила в реакционной камере в верхней части микропробирок карты. При центрифугировании осуществлялось разделение агглютинированных и неагглютинированных эритроцитов. В отсутствии агглютинации (отрицательная реакция) неагглютинированные эритроциты свободно диффундировали сквозь толщу геля, образуя компактный слой на дне микропробирок карты. При положительной реакции агглютинированные эритроциты в зависимости от размеров агглютинатов распределялись по всей толще геля (положительная реакция). Силу реакции оценивали в условных единицах от 4+ до 1+ в зависимости от расположения агглютинатов в геле микропробирки.

Для выполнения ТГТ использовали метод калиброванной автоматизированной тромбинографии (САТ, Calibrated Automated Thrombogram). Постановку теста производили в круглодонных планшетах (Immulon 2NB, ThermoFisherScientific, Финляндия) с использованием реактивов производства Thrombinoscope bv (Нидерланды). Для активации коагуляции применяли различные триггерные реагенты в зависимости от поставленной задачи и реактив «FluCa-kit», состоящий из субстрата тромбина, меченного флюорогенной меткой, и буфера, содержащего хлорид кальция. Измерения проводили относительно калибровочного раствора, который включал калибратор, представляющий собой синтетический аналог тромбина с заведомо известной активностью, и образец исследуемой плазмы. Все образцы плазмы и соответствующие калибровочные растворы измеряли в дублях на планшетном флюориметре Fluoroskan Ascent (ThermoFisherScientific, Финляндия). После автоматического внесения в каждую лунку планшета, содержащую образец плазмы и триггерный реагент, реактива «FluCa-kit», запускалось измерение флюоресценции через 20-секундные

интервалы, которое проводилось на протяжении всего процесса генерации тромбина. Измерение флюоресценции осуществлялось при температуре +37°C и длинах волн возбуждения и эмиссии 390 нм и 460 нм соответственно. На основе данных изменения флюоресценции при помощи программного обеспечения Thrombinoscope (Thrombinoscope BV, Нидерланды) выполняли построение кривых и расчет параметров генерации тромбина. Для стандартной постановки ТГТ использовали в качестве триггера «PPP-Reagent», представляющий собой смесь рекомбинантного человеческого ТФ и отрицательно заряженных прокоагулянтных фосфолипидов в конечной концентрации 5 пмоль и 4 мкмоль соответственно. «PPP-Reagent» представлен в двух вариантах: без добавления рекомбинантного человеческого ТМ («PPP-ReagentТМ-») и с добавлением ТМ («PPP-ReagentТМ+»). Проводили параллельную постановку образцов плазмы с обоими вариантами реагентов. Исследования генерации тромбина, зависимой от МЧ плазмы крови, проводили в образцах PFP, в качестве триггеров применяли реактивы «PRP-Reagent», содержащий рекомбинантный ТФ (конечная концентрация 1 пмоль), и «MP-Reagent», включающий фосфолипиды (конечная концентрация 4 мкмоль). При использовании реактива «MP-Reagent» постановку теста генерации тромбина выполняли с добавлением к исследуемой плазме ингибитора контактной активации СТИ (corn trypsin inhibitor). Конечная концентрация СТИ составляла 40 мкг/мл. Данное исследование генерации тромбина, зависимой от МЧ плазмы крови, проводилось только в группе лиц, перенесших заболевание. В связи с нахождением пациентов с острым течением заболевания в отделении интенсивной терапии инфекционного стационара, предназначенного только для больных COVID-19, отсутствовала техническая возможность проведения пробоподготовки образцов для исследования коагуляционной активности МЧ. На основании кривых генерации тромбина с помощью программного обеспечения рассчитывали параметры, характеризующие количество и динамику образования тромбина (Рисунок 7).

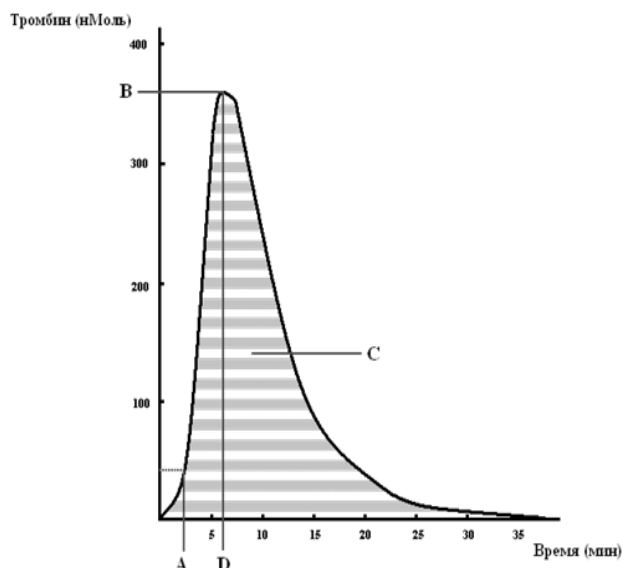


Рисунок 7 – Кривая генерации тромбина и измеряемые параметры

- 1) А – Лаг (мин) – фаза инициации свертывания, которая отражает время, необходимое для образования стартового количества тромбина и первых нитей фибрина;
- 2) В – Пик (нмоль) – максимальная концентрация тромбина, достигнутая в процессе его генерации;
- 3) С – ЭТП (нмоль·мин) – эндогенный потенциал тромбина, измеренный как площадь под кривой, оценивает все количество тромбина, образованного за время наблюдения процесса свертывания;
- 4) D – время достижения (пика, мин), за которое в образце образуется максимальное количество тромбина.

Также использовали расчетный показатель V (нмоль/мин) – скорость генерации тромбина.

Чувствительность к ТМ (ЧТМ), которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С, рассчитывали, как процент падения показателей ЭТП и Пик после добавления ТМ. Для упрощения оценки результатов исследования генерации тромбина определяли индекс коагуляции (ИК), который вычисляли по формуле (1), используя полученные показатели ТГТ:

$$\text{ИК} = \frac{\text{ЭТП (ТМ-)}}{\text{ЭТП(ТМ-)}_{\text{норм}} \cdot \text{ЧТМ (по ЭТП)}} \cdot 100\% \quad (1)$$

где ИК – индекс коагуляции, отражающий отношение про- и антикоагулянтов;

ЭТП (ТМ-), нмоль·мин – эндогенный потенциал тромбина больного без добавления ТМ;

ЭТП (ТМ-)норм, нмоль·мин – медиана эндогенного потенциала тромбина без добавления ТМ в группе здоровых лиц;

ЧТМ (по ЭТП), % – процент падения эндогенного потенциала тромбина больного при добавлении ТМ.

Индекс коагуляции позволяет определить соотношение про- и антикоагулянтов и оценить сохранность гемостатического баланса у обследуемого больного. Уменьшение ИК указывает на сдвиг гемостатического баланса в сторону гипокоагуляции, повышение – на наличие гиперкоагуляционных изменений.

Исследование характеристик циркулирующих МЧ (количества и происхождения) проводили методом проточной цитофлуориметрии на лазерном проточном цитофлуориметре Cytotflex (Beckman Coulter, США). Настройку протокола производили однократно при запуске прибора, цитометр использовали только для определения циркулирующих МЧ с помощью одних и тех же моноклональных антител. Использовали установленную при запуске цитофлуориметра конфигурацию фильтра, которая не требовала ежедневной настройки. С помощью калибровочных частиц известного размера от 0,02 до 2,0 μm (Thermo Fisher Scientific, США), производили гейтирование и выделение области для определения МЧ (Рисунок 8, 9).

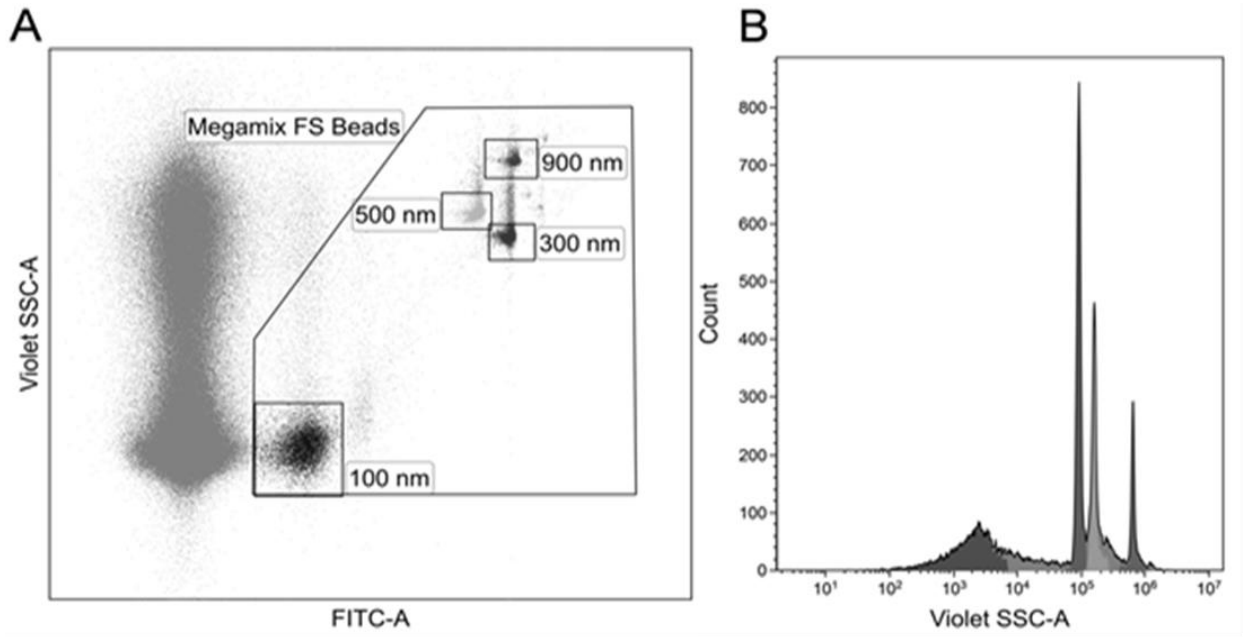


Рисунок 8 – Выделение области определения (гейта) МЧ с помощью калибровочных частиц известного размера

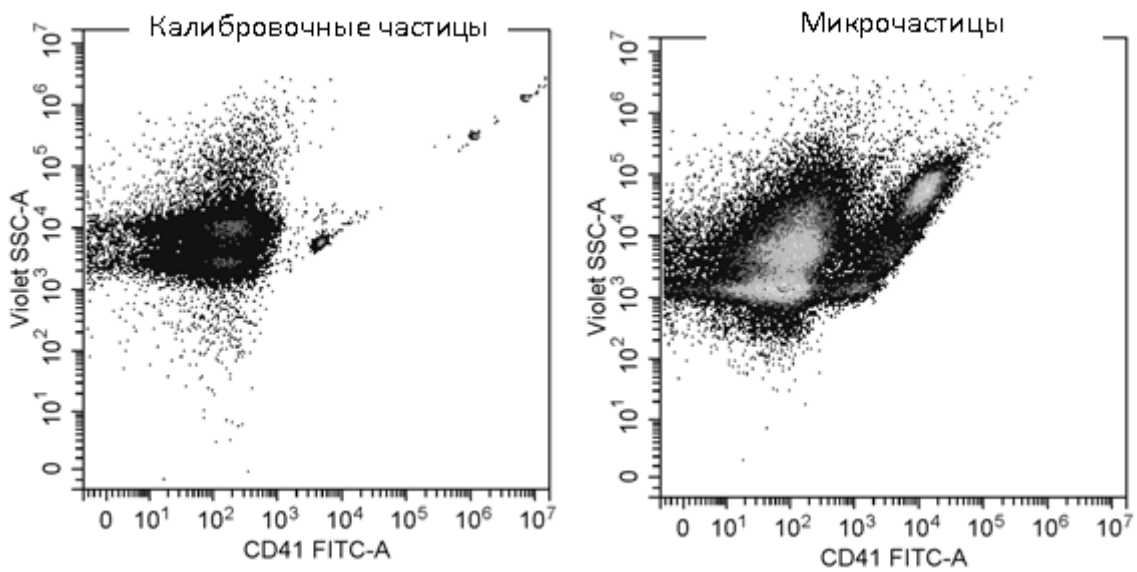


Рисунок 9 – Детекция МЧ в выбранной области (гейте)

Для ежедневного контроля качества использовали флуоросферы CytoFLEX Daily QC (Beckman Coulter, США). Окрашивание исследуемых образцов производили следующими моноклональными антителами: Anti-Hu CD45 – FITC

(Clone 2D1), Anti-Hu CD41 – APC (Clone MEM-06), Anti-Hu CD144 – PE (Clone 55–7H1) (Exbio Diagnostics, Чехия) для детекции лейкоцитарных, тромбоцитарных и эндотелиальных МЧ соответственно. Инкубирование образцов проводили при комнатной температуре в течение 20 мин в защищенном от света месте. После инкубации пробы разводили ФСБ и в течение 30 мин после окрашивания анализировали на проточном цитофлуориметре с использованием принятого протокола. Для каждого образца осуществляли набор не менее 1000000 событий. Автоматический подсчет частиц, окрашенных одним из моноклональных антител и попавших в область определения МЧ, проводили в образце согласно протоколу. Оценку количества МЧ в образце проводили путем сравнения полученных результатов с референтными значениями. Для определения пределов нормальных колебаний числа микрочастиц предварительно осуществляли исследование данного параметра в группе доноров Северо-Западного региона РФ, на основании полученных результатов определяли референтные интервалы.

Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Анализ нормальности распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данных, обнаруженного при исследовании иммунологических параметров, результаты выражали в виде среднего арифметического значения M и его стандартного отклонения (SD) как $M \pm SD$. При несимметричном распределении полученных данных, которое не отвечало критериям нормального распределения, использовали непараметрические методы статистического анализа. Определяли медиану (Me) и межквартильный интервал ($Q1-Q3$). Для сравнения независимых групп использовали непараметрический критерий U-тест Манна-Уитни. Для устранения проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони. Для сравнения трех и более независимых групп использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Для выявления возможной взаимосвязи полученных параметров рассчитывали ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Коэффициент корреляции (r), значение которого не превышало 0,3, рассматривали как признак слабой степени корреляции, значения

от 0,3 до 0,5 оценивали как умеренную корреляцию, значения от 0,5 до 0,7 – заметная степень корреляции и свыше 0,7 – высокая степень взаимосвязи. Для определения тесноты взаимосвязи каких-либо двух признаков использовали метод четырехпольных таблиц взаимной сопряженности. В качестве критерия оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска использовали критерий χ^2 и точный критерий Фишера. Оценку силы связи между фактором риска и исходом проводили, определяя критерий ϕ и коэффициент сопряжения Пирсона. Для поиска разделяющего порога переменных, ассоциированных с неблагоприятным исходом COVID-19, был использован ROC – анализ с построением ROC-кривых. Количественную интерпретацию ROC-кривых оценивали по показателю AUC, площади, ограниченной ROC-кривыми и осью доли ложных положительных результатов теста. Значение AUC менее 0,5 демонстрирует непригодность выбранного метода классификации, в связи с этим для дальнейшего анализа были выбраны переменные, для которых показатель AUC составлял более 0,7, что характеризует качество модели как хорошее. В качестве критерия нахождения оптимальной пороговой точки или разделяющего значения по кривой ROC использовали индекс Юдена, который позволяет оценить разницу между долей истинно положительных результатов теста (чувствительность) и долей ложно положительных результатов теста (специфичность) и выбрать оптимальное пороговое значение. Критический уровень статистической значимости принимали равным 0,05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ОСТРОЙ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

3.1 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания

3.1.1 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания в сравнении со здоровыми лицами

Состояние коагуляционного звена гемостаза в значительной мере определяется взаимодействием про- и антикоагулянтов, которое обеспечивает поддержание гемостатического баланса, необходимого для предотвращения риска развития кровотечения или тромбоза. Ключевой фермент системы свертывания крови – тромбин, играет первостепенную роль в процессе образования фибрина, составляющего структурную основу тромба. Ограничение генерации тромбина, необходимое для регуляции тромбообразования, зависит от действия различных естественных антикоагулянтов, наиболее значимыми из которых являются АТ и система протеина С. Оценка параметров, характеризующих работу плазменного звена гемостаза, позволяет вовремя обнаружить патологические отклонения, которые могут способствовать развитию тромбоэмболических или геморрагических осложнений, в связи с чем большое значение при различной патологии имеет своевременное определение возможных функциональных нарушений системы свертывания крови. Для выявления изменений состояния плазменного звена гемостаза, характерных для пациентов с острым течением новой коронавирусной инфекции, на начальном этапе исследования и до назначения специфической терапии оценивали показатели скрининговой коагулограммы, активность некоторых факторов свертывания и концентрацию D-димера в сравнении с параметрами, полученными при обследовании группы здоровых лиц. Результаты исследования представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Показатели плазменного гемостаза у больных COVID-19 в остром периоде заболевания и в контрольной группе (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты (n=163)	Контрольная группа (n=68)	p
иАПТВ	0,87 (0,82 – 0,98)	1,02 (0,98 – 1,07)	<0,000
ПТ, %	74,9 (65,1 – 83,2)	93,4 (91,2 – 105,4)	<0,000
ФГ, г/л	5,48 (4,11 – 7,31)	2,7 (2,5 – 2,9)	<0,000
FVIII, %	118,8 (86,4 – 181,7)	104,0 (85,0 – 130,0)	0,041
vWF, %	272,5 (188,0 – 390,0)	97,0 (84,8 – 110,0)	<0,000
Ag. vWF, %	224,5 (199,5 – 452,2)	107,0 (91,0 – 134,5)	<0,000
D-димер, нг/мл	530,0 (242,3 – 1579,5)	54,0 (48,0 – 85,0)	<0,000

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Как видно из представленных данных, по всем исследованным параметрам были выявлены достоверные различия между пациентами с COVID-19 и здоровыми лицами. Практически все показатели в группе больных указывали на развитие выраженных изменений, соответствующих состоянию гиперкоагуляции. Так, было выявлено повышение активности FVIII, активности и уровня vWF, увеличение концентрации D-димера, что однозначно указывает на прокоагулянтную направленность реакций гемостаза. Обнаруженное снижение иАПТВ у пациентов с COVID-19 в сравнении со здоровыми лицами не может рассматриваться как признак гиперкоагуляции, так как данный показатель не выходил за пределы референтных интервалов. Наибольшие изменения затрагивали уровень D-димера, медиана значений которого в группе пациентов превышала таковую в контрольной группе в 10 раз (Me – 530 нг/мл; Q1 – Q3: 242,3 – 1579,5 нг/мл, против Me – 54,0 нг/мл; Q1 – Q3: 48,0 – 85,0 нг/мл, p<0,000). Так же для больных было характерно значительное повышение концентрации фибриногена – показателя, который, как и высокие значения других белков острой фазы, таких как

FVIII и vWF, указывает не только на остроту воспалительного процесса, но и на развитие прокоагулянтных изменений. Низкие значения ПТ по Квику, выявленные у пациентов с COVID-19, были единственным параметром, который свидетельствует о возможной гипокоагуляции в острой стадии заболевания. Однако данная особенность может быть обусловлена снижением белково-синтетической функции печени на фоне острого инфекционного процесса.

На фоне прокоагулянтных изменений общий гемостатический потенциал в значительной степени зависит от эффективности естественных антикоагулянтов: АТ и системы протеина С, одними из составляющих которой являются непосредственно РС и его кофактор – свободный PS. Результаты сравнительного анализа активности АТ, РС и уровня свободного PS у больных COVID-19 и контрольной группы представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Активность/уровень естественных антикоагулянтов у больных COVID-19 в остром периоде заболевания и в контрольной группе (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты (n=163)	Контрольная группа (n=68)	p
АТ, %	94,0 (81,9 – 103,0)	91,0 (85,0 – 99,0)	0,65
РС, %	95,6 (77,0 – 114,7)	102,0 (89,5 – 114,3)	0,08
PS, %	63,1 (53,6 – 88,6)	79,0 (58,3 – 112,0)	<0,000

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Активность АТ и РС в группе пациентов не отличалась от контрольной группы и оставалась в пределах референтных интервалов. В то же время уровень свободного протеина S был значимо ниже, чем у здоровых лиц. Данная особенность может быть обусловлена развитием воспалительного ответа с последующей активацией комплемента, при которой происходит связывание свободного PS и, как следствие, снижение эффективности работы системы протеина С, характерное для инфекционного процесса [187].

Определение отдельных показателей системы гемостаза часто является малоинформативным для оценки гиперкоагуляционных изменений, обусловленных в первую очередь взаимодействием про- и антикоагулянтов, которое обеспечивает сохранность или вызывает нарушение гемостатического баланса плазменного звена гемостаза. В связи с этим всем обследованным пациентам с COVID-19 выполняли определение динамики генерации тромбина с помощью интегрального метода исследования системы гемостаза – ТГТ. Исследование проводили как с добавлением ТМ, так и без такового. Полученные результаты представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Показатели ТГТ у больных COVID-19 в остром периоде заболевания и в контрольной группе (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты (n=163)	Контрольная группа (n=23)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1901,9 (1568,9 – 2094,6)	1642,3 (1489,9 – 1777,0)	0,036
Пик (ТМ–), нмоль	207,9 (171,5 – 306,6)	285,6 (265,5 – 311,8)	0,014
ЭТП (ТМ+), нмоль×мин	1473,7 (1194,1 – 1848,2)	872,0 (533,5 – 1390,5)	<0,000
Пик (ТМ+), нмоль	190,3 (146,8 – 304,8)	173,3 (113,6 – 313,0)	0,047
ЧТМ ЭТП, %	11,5 (3,9 – 25,5)	52,9 (47,8 – 57,7)	<0,000
ЧТМ Пик, %	4,0 (0,0 – 11,7)	42,1 (36,2 – 47,0)	<0,000
ИК	8,8 (4,0 – 24,9)	1,9 (1,3 – 2,5)	<0,000

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Из представленных результатов ТГТ следует, что при поступлении в стационар эндогенный потенциал тромбина (ЭТП (ТМ–)) у пациентов с COVID-19 значительно превышал соответствующие параметры контрольной группы, что указывает на развитие тромбинемии. Наиболее выраженные изменения

параметров ТГТ были выявлены при проведении исследования с добавлением в реакционную смесь ТМ, что сопровождалось резким снижением чувствительности к ТМ и свидетельствовало о значительном угнетении работы системы протеина С. Так, медиана ЧТМ ЭТП в группе пациентов равнялась 11,5%, тогда как в контрольной группе она была в 5 раз выше и составляла 52,9% (Ме – 11,5 %; Q1 – Q3: 3,9 – 25,5, против Ме – 52,9%; Q1 – Q3: 47,8 – 57,7%, $p < 0,000$), ЧТМ Пик у больных COVID-19 была снижена еще более значимо, до 4%, тогда как у здоровых лиц она была выше в 10 раз и составляла 42,1% (Ме – 14 %; Q1 – Q3: 0,0 – 11,7, против Ме – 42,1%; Q1 – Q3: 36,2 – 47,0%, $p < 0,000$). Дисбаланс, возникающий при снижении эффективности системы естественных антикоагулянтов, которой является система протеина С, может быть одним из ведущих звеньев развития гиперкоагуляционных изменений у пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции. В группе больных в сравнении со здоровыми лицами обращало на себя внимание снижение показателя Пик (ТМ–), что не соответствовало общей протромботической направленности изменений системы гемостаза. Возможно, данная особенность обусловлена компенсаторной реакцией, выражающейся в действии антикоагулянтной системы, направленном на ограничение развития тромбинемии. Однако, несмотря на снижение максимальной концентрации тромбина, ИК, отражающий общий гемостатический баланс в плазменном звене гемостаза, был в 4,6 раза выше у пациентов, чем у здоровых лиц (Ме – 8,8; Q1 – Q3: 4,0 – 24,9, против Ме – 1,9; Q1 – Q3: 1,3 – 2,5, $p < 0,000$), что однозначно свидетельствует о наличии гиперкоагуляции.

3.1.2 Влияние анти тромботической терапии на состояние плазменного гемостаза у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания

Учитывая высокий риск тромботических событий на фоне новой коронавирусной инфекции, назначение эффективной анти тромботической терапии всем пациентам с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 играет важную роль в лечении и улучшении исходов данного заболевания. Для исследования

влияния антикоагулянтных препаратов на параметры системы гемостаза, а также для оценки ее эффективности, у группы пациентов из 56 человек проводили мониторинг показателей системы гемостаза в динамике: при поступлении (группа 1), на 3-5 (группа 2) и на 8-10 (группа 3) сутки пребывания в стационаре уже на фоне приема антикоагулянтов. Данные, полученные при исследовании отдельных коагуляционных параметров, представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Динамика изменений показателей плазменного звена гемостаза у больных в остром периоде COVID-19 на фоне антитромботической терапии (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=56)	Группа 2 (n=56)	Группа 3 (n=56)	p
иАПТВ	0,88 (0,82-1,01)	0,88 (0,83 – 0,97)	0,87 (0,11 – 1,99)	0,865
ПТ, %	72,0 (63,9 – 82,0)	72,9 (65,0 – 84,9)	75,4 (67,0 – 85,9)	0,985
ФГ, г/л	5,8 (4,3 – 7,3)	5,1 (4,3 – 6,3)	4,6 (3,69 – 5,28)	0,970
FVIII, %	133,7 (97,6 – 188,4)	139,2 (119,7 – 183,3)	113,2 (95,5 – 155,0)	0,686
vWF, %	305,0 (250,0 – 415,0)	290,0 (190,0 – 395,0)	280,0 (205,0 – 320,0)	0,290
Ag. vWF, %	228,9 (212,2 – 478,4)	219,0 (201,7 – 225,8)	205,0 (187,5 – 295,0)	0,076
D-димер, нг/мл	834,0 (387,5 – 2593,0)	627,0 (319,0 – 1781,0)	351,5* (268,3 – 666,5)	0,013

Примечание: * – $p < 0,01$ при сравнении результатов групп 1 и 3, p – результаты сравнения трех групп

Исходное повышение отдельных маркеров гиперкоагуляции сохранялось и на фоне назначения препаратов НМГ при обследовании пациентов в динамике. По результатам сравнения 3-х групп пациентов обнаружена значимая динамика изменений только уровня D-димера, сопровождавшаяся снижением его концентрации к 8 – 10 дню наблюдения примерно в 2,5 раза в сравнении с исходными значениями (Me – 351,5 нг/мл; Q1 – Q3: 268,3 – 666,5 нг/мл, против Me – 834,0 нг/мл; Q1 – Q3: 387,5 – 2593,0 нг/мл, $p < 0,013$). Проведение апостериорных

сравнений показало наличие тенденции к уменьшению уровня D-димера при сравнении групп 2 и 3 ($p=0,053$). Сравнение уровня антигена vWF в трёх группах пациентов выявило уровень значимости, близкий к принятому, что дало основание для выполнения апостериорных сравнений между отдельными группами. Выявлена лишь тенденция к снижению уровня антигена vWF у пациентов на 8 – 10 дни госпитализации относительно исходных значений ($p=0,076$). Таким образом, полученные данные указывали на сохранение прокоагулянтной направленности изменений плазменного звена гемостаза, а отдельные показатели коагулограммы не отражали эффекта от проводимой антитромботической терапии в течение 10 дней.

В Таблице 6 представлены результаты динамики изменения активности и уровня естественных антикоагулянтов пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции на фоне госпитализации и назначения антитромботической терапии.

Таблица 6 – Динамика изменений активности/уровня естественных антикоагулянтов у больных в остром периоде COVID-19 на фоне антитромботической терапии (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=56)	Группа 2 (n=56)	Группа 3 (n=56)	p
AT, %	89,1 (81,0 – 99,5)	90,2 (80,5-101,3)	91,0 (84,0 – 97,2)	0,419
PC, %	97,0 (72,0 – 108,0)	102,0 (71,0 – 111,0)	102,0 (87,3 – 115,0)	0,5
PS, %	68,8 (46,7 – 84,7)	57,1 (44,1 – 80,0)	80,1 (63,7 – 89,3)	0,915

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении трех групп пациентов

Изменения активности/уровня естественных антикоагулянтов у пациентов в течение периода наблюдения отсутствовали. Так, у пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции на фоне назначения антикоагулянтных препаратов

активность антитромбина и протеина С не менялась и оставалась в пределах референтных интервалов независимо от сроков обследования и проводимой терапии. Также при динамическом обследовании на фоне лечения сохранялось падение уровня свободного PS, выявленное при первичном обследовании, что указывало на возможные нарушения работы системы протеина С, характерные для инфекционного процесса [78; 136].

Для оценки общего гемостатического потенциала на фоне проводимой антитромботической терапии оценивали параметры генерации тромбина в динамике. Результаты представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Динамика изменений показателей ТГТ у больных в остром периоде COVID-19 на фоне антитромботической терапии (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=56)	Группа 2 (n=56)	Группа 3 (n=56)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1904,7 (1567,1 – 2054,7)	1773,6 (1532,6 – 2061,1)	1469,2 (1140,1 – 1854,2)	0,478
Пик (ТМ–), нмоль	205,6 (173,4 – 267,5)	225,4 (146,33 – 297,1)	137,32 (83,4 – 215,6)	0,156
ЭТП (ТМ+), нмоль×мин	1536,5 (1204,7 – 1815,7)	1452,2 (1072,5 – 1825,5)	1110,5 (710,1 – 1437,2)	0,244
Пик (ТМ+), нмоль	197,3 (154,7 – 267,0)	210,5 ** (127,1 – 263,1)	125,5* (63,6 – 207,8)	0,045
ЧТМ ЭТП, %	9,7 (4,8 – 25,0)	18,0 (11,0 – 17,0)	27,5* (6,5 – 45,2)	0,025
ЧТМ Пик, %	0,3 (0,0 – 7,85)	6,4 (0,0 – 11,0)	8,0 (0,0 – 30,5)	0,101
ИК	10,7*** (4,15 – 22,9)	7,4** (2,9 – 11,4)	2,8* (1,7 – 9,2)	0,0003

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении трех групп пациентов, * – $p < 0,05$ при сравнении результатов групп 1 и 3, ** – $p < 0,05$ при сравнении результатов групп 2 и 3, *** – $p < 0,05$ при сравнении результатов групп 1 и 2

Применение критерия Краскела-Уоллеса, при анализе полученных результатов, позволило выявить значимые различия между показателями,

характеризующими ИК, ЧТМ ЭТП и Пик (ТМ+) в разные периоды наблюдения. Выполнение апостериорных сравнений обнаружило значимое последовательное снижение ИК по мере увеличения длительности антитромботической терапии с 10,7 при первичном обследовании до 2,8 на 8 – 10 сутки наблюдения (Ме – 10,7; Q1 – Q3: 4,15 – 22,9, против Ме – 2,8; Q1 – Q3: 1,7 – 9,2, $p < 0,0003$). При обследовании пациентов на 3-5 сутки (группа 2) параметры генерации тромбина существенно не изменились и свидетельствовали о сохранении гиперкоагуляции, однако наблюдалось значимое снижение ИК. Существенные изменения, помимо уменьшения ИК, свидетельствующие о снижении уровня генерации тромбина на фоне назначения антикоагулянтных препаратов, отмечены на 8 – 10 сутки наблюдения. Так, было выявлено уменьшение пиковой концентрации тромбина, значимое, по сравнению с исходными показателями, увеличение ЧТМ, что свидетельствовало о некотором восстановлении работы системы протеина С. Однако ЧТМ не достигала нормальных значений, оставаясь меньше параметров контрольной группы даже на 8 – 10 день пребывания в стационаре и на фоне назначения антикоагулянтных препаратов, что указывало на сохранение дисбаланса, обусловленного снижением эффективности системы естественных антикоагулянтов.

Таким образом, у пациентов в остром периоде COVID-19 наблюдаются значимые протромботические изменения, выражающиеся в повышении ЭТП, активности FVIII, активности и содержания vWF, концентрации D-димера. Снижение уровня PS и чувствительности к ТМ ассоциируются с падением эффективности антикоагулянтной системы протеина С, что способствует выраженному дисбалансу в системе гемостаза. Выявление перечисленных маркеров гиперкоагуляции сохраняется в течение госпитализации независимо от назначения препаратов НМГ. К 8 – 10 суткам, несмотря на проводимую терапию, сохраняется значимое повышение, относительно референтных параметров, уровня отдельных показателей, характеризующих состояние плазменного звена гемостаза. Однако результаты ТГТ однозначно свидетельствуют об отсутствии тромбинемии у пациентов на 8 – 10 день лечения, что в свою очередь указывает на

эффективность проводимой антитромботической терапии. Среди всех выполненных тестов, оценивающих наличие и степень изменений состояния плазменного звена гемостаза у пациентов с COVID-19 в остром периоде заболевания на фоне антитромботической терапии, наиболее информативным оказался расчётный показатель ИК, определяемый на основе данных ТГТ. ТГТ предоставляет объективную информацию о гемостатическом потенциале в целом и, учитывая вышеперечисленное, является более информативным методом для мониторинга профилактики тромботических осложнений у лиц в остром периоде коронавирусной инфекции в отличие от отдельных показателей коагулограммы.

3.1.3 Особенности плазменного гемостаза у пациентов с COVID-19 в зависимости от течения и исхода заболевания

Для пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 характерна высокая летальность. Смертность в группе больных, обследованных на фоне острого течения новой коронавирусной инфекции, составила 26%. Сравнение параметров, оценивающих состояние системы гемостаза в остром периоде в зависимости от исхода заболевания, может оказаться полезным для выявления прогностической значимости отдельных тестов. Полученные нами результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Показатели плазменного гемостаза у больных в остром периоде COVID-19 в зависимости от исхода заболевания (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты с выздоровлением (n=120)	Пациенты с летальным исходом (n=43)	p
иАПТВ	0,88 (0,82 – 0,97)	0,88 (0,82 – 1,08)	0,407
ПТ, %	79,0 (70,2 – 85,1)	65,3 (51,0 – 73,9)	0,000
ФГ, г/л	5,4 (4,1 – 6,9)	5,5 (3,6 – 8,0)	0,931
FVIII, %	112,4 (85,8 – 165,5)	150,0 (80,3 – 217,2)	0,08
vWF, %	250,5 (180,0 – 350,1)	340,0 (260,1 – 420,0)	0,01
Аг. vWF, %	219,6 (198,3 – 321,2)	234,5 (222,2 – 563,2)	0,08
D-димер, нг/мл	387,0 (220,0 – 724,5)	1670,0 (715,0 – 4334,5)	<0,000

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Ряд показателей, характеризующих состояние плазменного гемостаза, различался между собой у пациентов в зависимости от исхода заболевания. Так, для пациентов с острым течением заболевания и с последующим неблагоприятным исходом были характерны значимые гемостатические нарушения, выражающиеся в более выраженном снижении ПТ по Квику, а также увеличении активности vWF и уровня D-димера при сравнении с результатами, полученными у выживших больных. Наиболее глубокие отличия между выжившими и умершими пациентами получены при сравнении уровня D-димера. Медиана данного показателя была в 4,3 раза выше в группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания (Me – 1670,0 нг/мл; Q1 – Q3: 715,0 – 4334,5 нг/мл, против Me – 387,0 нг/мл; Q1 – Q3: 220,0 – 742,5 нг/мл, $p < 0,000$). Полученные результаты согласуются с литературными данными, где многочисленные исследователи рассматривают чрезмерное повышение уровня D-димера как неблагоприятный прогностический маркер исхода заболевания [1; 12; 112].

Результаты исследования параметров, характеризующих состояние системы естественных антикоагулянтов у пациентов с острым течением заболевания в зависимости от его исхода, представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Активность/уровень естественных антикоагулянтов у больных в остром периоде COVID-19 в зависимости от исхода заболевания (Me (Q1—Q3))

Показатели	Пациенты с выздоровлением (n=120)	Пациенты с летальным исходом (n=43)	p
АТ, %	97,7 (84,3 – 105,0)	85,3 (71,0 – 97,5)	0,034
РС, %	97,0 (79,7 – 117,3)	88,0 (67,2 – 102,0)	0,185
PS, %	75,2 (56,5 – 90,0)	62,7 (48,2 – 86,3)	0,138

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Существенные отличия активности/уровня естественных антикоагулянтов системы протеина С у пациентов с различным исходом заболевания отсутствовали. Только активность АТ была значимо ниже в группе пациентов с летальным исходом, что может вносить дополнительный вклад в развитие гиперкоагуляции с образованием дисбаланса в системе гемостаза, который играет одну из ключевых ролей в реализации тромботических осложнений, приводящих к увеличению количества смертельных исходов.

Результаты, полученные при выполнении ТГТ у выживших и умерших пациентов, представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Показатели ТГТ у больных в остром периоде COVID-19 в зависимости от исхода заболевания (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты с выздоровлением (n=120)	Пациенты с летальным исходом (n=43)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1941,8 (1589,5 – 2126,3)	1829,2 (1557,5 – 2050,3)	0,36
Пик (ТМ–), нмоль	231,7 (166,7 – 332,1)	205,6 (165,9 – 274,7)	0,199
ЭТП (ТМ+), нмоль×мин	1577,7 (1193,4 – 1873,1)	1508,4 (1287,5 – 1787,8)	0,684
Пик (ТМ+), нмоль	202,4 (146,3 – 317,3)	201,4 (137,8 – 269,2)	0,441
ЧТМ ЭТП, %	11,5 (3,8 – 27,5)	9,0 (3,9 – 23,0)	0,461
ЧТМ Пик, %	3,3 (0,0 – 12,5)	1,1 (0,0 – 7,6)	0,244
ИК	7,9 (3,7 – 22,8)	9,2 (5,2 – 21,3)	0,493

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Представленные параметры ТГТ говорят об отсутствии значимых различий данных показателей между пациентами с тем или иным исходом заболевания.

В связи с наличием значимых различий между выжившими и умершими пациентами по отдельным гемостатическим показателям в группе с летальным исходом провели анализ взаимосвязи выявленных лабораторных изменений и исхода заболевания с помощью четырехпольных таблиц сопряженности. Оценка связи таких показателей, как ПТ по Квику и активность АТ, с летальностью обнаружила, что для ПТ по Квику критерий χ^2 и точный критерий Фишера (ϕ) составляют 4,46 ($p=0,035$) и 0,03518 ($p<0,05$) соответственно, а коэффициент Пирсена (C) – 0,236; для АТ: $\chi^2=8,467$ ($p=0,004$), $\phi=0,114$ ($p<0,05$), C=0,319. Полученные результаты статистического анализа указывают на наличие взаимосвязи средней силы между снижением данных лабораторных показателей и неблагоприятным исходом заболевания. Оценка связи повышения уровня D-димера и активности vWF также показала взаимосвязь средней силы с развитием

летального исхода заболевания, получены следующие значения для уровня D-димера: $\chi^2=5,646$ ($p=0,018$), $\phi=0,02080$ ($p<0,05$), $C=0,270$; для активности vWF: $\chi^2=4,243$ ($p=0,04$), $\phi=0,06082$ ($p<0,05$), $C=0,288$. Представленные выше результаты, полученные при оценке значимости различий исходов в зависимости от отдельных лабораторных тестов, дают возможность расценивать снижение ПТ по Квику и активности АТ, а также повышение уровня D-димера и активности vWF как неблагоприятные прогностические маркеры у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19.

Оценка показателей плазменного гемостаза, связанных с неблагоприятным исходом заболевания, с помощью ROC – анализа, обнаружила, что для таких параметров, как уровень D-димера и значение ПТ по Квику, получена модель хорошего качества: AUC составила 0,787 и 0,747 соответственно, что позволило определить пороговые значения данных показателей, связанных с неблагоприятным исходом. Для показателя, характеризующего уровень D-димера, наибольший индекс Юдена – 47,2, соответствующий чувствительности 72% и специфичности 75,2%, был получен для пороговой точки 800 нг/мл (Рисунок 10).

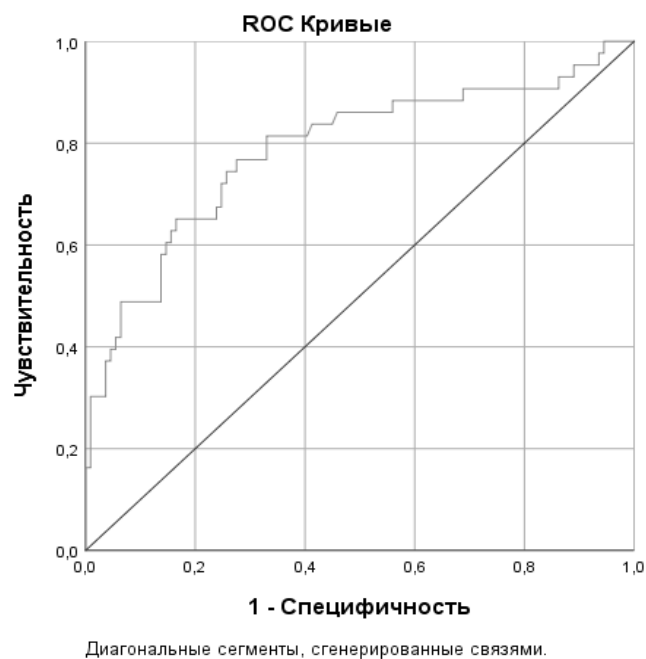


Рисунок 10 – ROC-кривые для параметра D-димер

Для показателя ПТ по Квику наибольший индекс Юдена – 44,3, соответствующий чувствительности 70% и специфичности 74,3%, был получен для пороговой точки 70% (Рисунок 11).

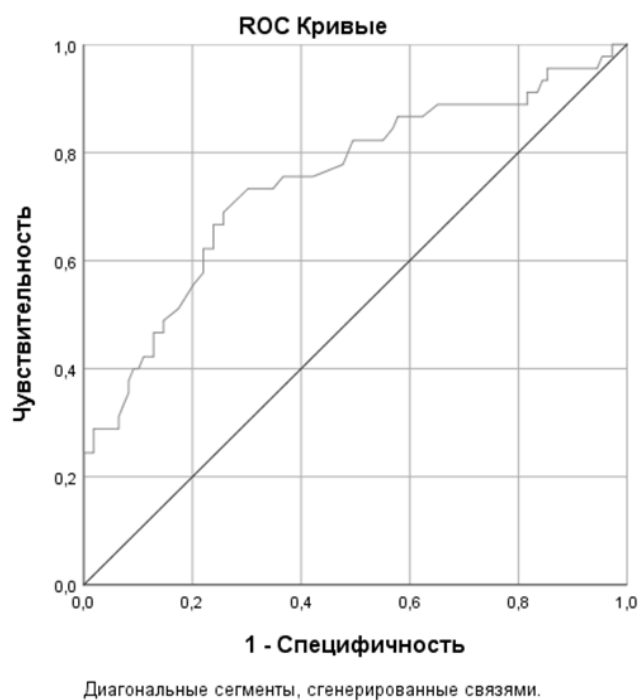


Рисунок 11 – ROC-кривые для параметра ПТ по Квику

Результаты ROC – анализа, проведенного для показателей плазменного гемостаза, позволяют рассматривать концентрацию D-димера более 800 нг/мл и активность ПТ по Квику менее 70% в качестве маркеров неблагоприятного исхода заболевания у пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции.

Для оценки связи изменений ряда параметров, характеризующих состояние системы гемостаза и тяжести течения заболевания, проводился корреляционный анализ результатов балльной оценки тяжести состояния пациентов по шкале прогнозирования NEWS и отдельных гемостатических показателей. Выявлена значимая корреляция между тяжестью состояния пациентов по шкале NEWS и

содержанием vWF ($r=0,433554$, $p<0,05$), а также уровнем D-димера ($r=0,335701$, $p<0,05$).

Таким образом, проведенный анализ параметров, оценивающих состояние плазменного звена гемостаза в зависимости от тяжести и исхода заболевания, позволил выявить ряд показателей, ассоциированных с неблагоприятным течением новой коронавирусной инфекции. Полученные результаты свидетельствуют о тесной связи нарушений системы гемостаза, развивающихся на фоне COVID-19, как с тяжелым течением, так и с неблагоприятным исходом заболевания. Повышение уровня D-димера выше 800 нг/мл и снижение активности ПТ по Квику ниже 70% указывают на высокую вероятность неблагоприятного исхода заболевания. Также маркерами неблагоприятного исхода могут являться снижение активности АТ и повышение активности vWF.

3.2 Взаимосвязь тромбоцитопении с изменениями в системе гемостаза и тяжестью течения заболевания у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания

Известно, что как количество, так и функциональная состоятельность тромбоцитов играют важную роль для развития гемостатических реакций. Учитывая, что у 25% пациентов, обследованных в острой стадии заболевания, обнаружена умеренная тромбоцитопения (число тромбоцитов $< 150 \times 10^9/\text{л}$), было необходимо оценить изменения параметров плазменного гемостаза у больных с низким числом тромбоцитов (группа 1) относительно тех, у кого их количество оставалось в пределах нормальных значений (группа 2). Полученные результаты представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза у пациентов в остром периоде COVID-19, в зависимости от наличия тромбоцитопении (Ме (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=40)	Группа 2 (n=123)	p
иАПТВ	0,89 (0,79 – 0,99)	0,86 (0,8 – 0,95)	0,379
ПТ, %	70,2 (53,5 – 80,8)	77,0 (67,35 – 85)	0,005
ФГ, г/л	5,1 (3,1 – 6,6)	5,54 (4,2 – 7,2)	0,169
FVIII, %	138,5 (94,4 – 193,0)	113,8 (84,2 – 162,5)	0,105
vWF, %	320,0 (250,0 – 410,0)	250,0 (180,0 – 345,0)	0,028
Аг. vWF, %	226,3 (210,9 – 528,5)	223,5 (198,4 – 239,9)	0,042
D-димер, нг/мл	794,0 (282,0 – 3381,0)	446,0 (232,0 – 1008,5)	0,036

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Между двумя группами пациентов были обнаружены достоверные различия по ряду показателей, характеризующих состояние плазменного гемостаза. Так, у пациентов с тромбоцитопенией активность и содержание vWF, а также уровень D-димера были значимо выше, а ПТ по Квику, наоборот, ниже по сравнению с показателями, выявленными в группе 2. Наиболее значимые различия между 1ой и 2ой группами были обнаружены по показателям активности vWF и концентрации D-димера. Полученные результаты указывали на более глубокие, разнонаправленные изменения системы гемостаза у больных со сниженным количеством тромбоцитов.

Параметры, характеризующие активность/уровень естественных антикоагулянтов у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия тромбоцитопении, представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Показатели активности/уровня естественных антикоагулянтов у пациентов в острой фазе COVID-19 в зависимости от наличия тромбоцитопении (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=40)	Группа 2 (n=123)	p
AT, %	95,8 (75,6 – 105,25)	92,7 (83,0 – 102,0)	0,424
PC, %	98,5 (56,2 – 123,0)	96,0 (80,0 – 115,5)	0,545
PS, %	67,9 (45,6 – 89,5)	70,8 (55,4 – 88,7)	0,112

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Значимые различия активности/уровня естественных антикоагулянтов между пациентами с наличием тромбоцитопении и при отсутствии таковой не выявлены. Необходимо отметить, что независимо от наличия тромбоцитопении уровень свободного PS, который является важной составляющей антикоагулянтной системы протеина С, оставался ниже референтных значений.

В Таблице 13 представлены результаты интегральной оценки системы гемостаза с помощью ТГТ в группах пациентов в зависимости от наличия или отсутствия тромбоцитопении.

Таблица 13 – Показатели ТГТ у больных в острой фазе COVID-19 в зависимости от наличия тромбоцитопении (Ме (Q1 – Q3))

Показатели	Группа 1 (n=40)	Группа 2 (n=123)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1599,7 (1454,1 – 1973,8)	1790,7 (1429,6 – 2057,4)	0,119
Пик (ТМ–), нмоль	166,4 (127,1 – 250,2)	207,0 (137,675 – 293,365)	0,337
ЭТП (ТМ+), нмоль×мин	1333,8 (1082,4 – 1605,7)	1478,3 (1067,2 – 1818,4)	0,215
Пик (ТМ+), нмоль	163,2 (124,5 – 228,8)	190,3 (120,1 – 290,4)	0,215
ЧТМ ЭТП, %	15,0 (5,85 – 30,5)	14,5 (4,3 – 33,5)	0,887
ЧТМ Пик, %	3,0 (0,0 – 9,3)	4,0 (0,0 – 13,9)	0,688
ИК	8,3 (3,9 – 21,0)	9,4 (4,0 – 29,5)	0,518

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Как видно из представленных данных, между группами пациентов с наличием и отсутствием тромбоцитопении не выявлено достоверных различий по показателям ТГТ.

Значимое повышение активности и содержания vWF у пациентов с тромбоцитопенией в сравнении с больными с числом тромбоцитов более $150 \times 10^9/\text{л}$ может свидетельствовать о более глубоком поражении эндотелия и развитии эндотелиальной дисфункции, ассоциированной с потерей атромбогенных свойств сосудистой стенки. Можно предположить, что именно высокая активность vWF является одной из возможных причин повышенного потребления тромбоцитов и развития тромбоцитопении. Несмотря на более выраженные нарушения в системе гемостаза у пациентов с низким содержанием тромбоцитов, была обнаружена только слабая связь между наличием тромбоцитопении и развитием тромбоза ($\phi=0,114$; $C=0,113$). При этом значения критерия χ^2 и точного критерия Фишера составляют 2,104, $p=0,147$ и 0,1796, $p>0,05$ соответственно, и свидетельствуют об отсутствии значимой взаимосвязи. В то же время, определение влияния

тромбоцитопении на неблагоприятный исход заболевания (летальный исход) обнаружило, что критерий χ^2 и точный критерий Фишера составляют 13,894, $p < 0,001$ и 0,00058, $p < 0,05$ соответственно, что указывает на значимость взаимосвязи между данными состояниями. Оценка силы связи между развитием тромбоцитопении и летальным исходом выявила наличие связи средней силы ($\phi = 0,293$; $C = 0,281$). Представленные выше результаты, полученные при оценке значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска (тромбоцитопении), позволяют расценивать снижение количества тромбоцитов как неблагоприятный прогностический фактор у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19.

3.3 Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов с COVID-19 в острой стадии заболевания

Способность МЧ плазмы крови, происходящих из клеток крови и эндотелия, участвовать в различных биологических реакциях организма активно изучается, известно, что они также оказывают влияние на функционирование системы гемостаза. За счет локализованных на их поверхности отрицательно заряженных ФЛ и ТФ МЧ активно участвуют в гемостатических реакциях, что, вероятно, имеет значение в процессе развития тромботических осложнений при различной патологии [22; 24]. В связи с этим представлялось существенным оценить возможное участие МЧ в развитии гиперкоагуляционных изменений в группе пациентов, находящихся в остром периоде COVID-19. Для характеристики МЧ был использован метод проточной цитометрии. Результаты, полученные при сравнении параметров обследованных пациентов с одноименными показателями группы контроля, представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Характеристика состава МЧ у больных COVID-19 и в контрольной группе (Me (Q1 – Q3))

Клеточный маркер	Пациенты (n=24)	Контрольная группа (n=23)	p
CD41+ (% событий)	3,22 (1,68 – 4,35)	0,13 (0,09 – 0,26)	0,000
CD45+ (% событий)	0,00 (0,00 – 0,01)	0,01 (0,0 – 0,01)	0,154
CD144+ (% событий)	0,04 (0,03 – 0,06)	0,04 (0,01 – 0,05)	0,647

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Представленные результаты свидетельствуют о значимых различиях по количеству и составу МЧ между пациентами на фоне острого течения коронавирусной инфекции и здоровыми лицами. Значение медианы CD41+ (% событий), характеризующее количество тромбоцитарных МЧ у больных COVID-19, в 25 раз превышает данный параметр контрольной группы (Me – 3,22; Q1 – Q3: 1,68 – 4,35, против Me – 0,13; Q1 – Q3: 0,09 – 0,26, $p < 0,000$). Относительно количества лейкоцитарных и эндотелиальных МЧ достоверных различий с контрольной группой получено не было. На Рисунке 12 представлены данные, полученные на проточном цитометре относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента М., находящегося в остром периоде COVID-19, и здорового донора.

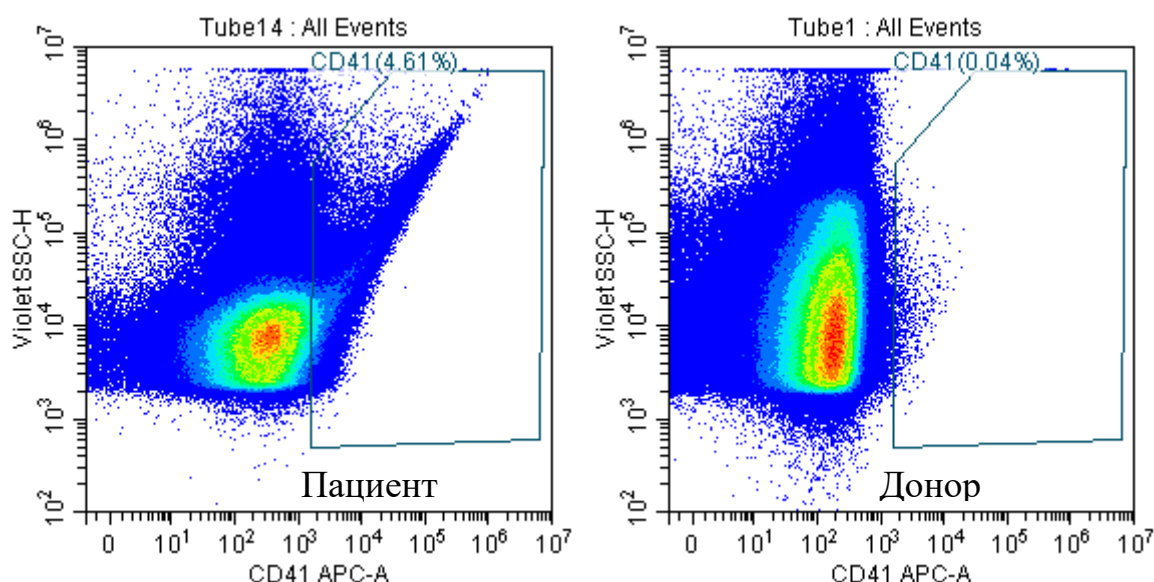


Рисунок 12 – Тромбоцитарные МЧ у больного COVID-19 и здорового донора

У 9 человек (38%) из обследованной группы пациентов заболевание закончилось летальным исходом. В связи с этим также был произведен анализ характеристик МЧ в зависимости от исхода заболевания. Полученные результаты представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Характеристика МЧ у больных COVID-19 в зависимости от исхода заболевания (Me (Q1 – Q3))

Клеточный маркер	Выжившие пациенты (n=15)	Умершие пациенты (n=9)	p
CD41+ (% событий)	2,22 (1,385 – 3,26)	4,27 (3,48 – 4,61)	0,025
CD45+ (% событий)	0 (0,0 – 0,01)	0 (0,0 – 0,01)	-
CD144+ (% событий)	0,03 (0,02 – 0,03)	0,05 (0,03 – 0,06)	0,8

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Представленные данные свидетельствуют о достоверном повышении количества тромбоцитарных МЧ у больных с неблагоприятным исходом

заболевания в сравнении с выжившими пациентами. Относительно количества эндотелиальных МЧ достоверных различий между группами обнаружено не было. Обнаруженное число лейкоцитарных МЧ было незначительным, что не позволило провести статистическую обработку. В связи со значительным повышением числа тромбоцитарных МЧ у умерших пациентов был проведен ROC – анализ с целью определения порогового значения числа тромбоцитарных МЧ, связанного с неблагоприятным исходом заболевания. В результате была получена модель хорошего качества, AUC составила 0,798, что позволило определить пороговый показатель. Наибольший индекс Юдена – 50,5, соответствующий чувствительности 77,8% и специфичности 72,7%, был получен для пороговой точки 3,22% событий (Рисунок 13).

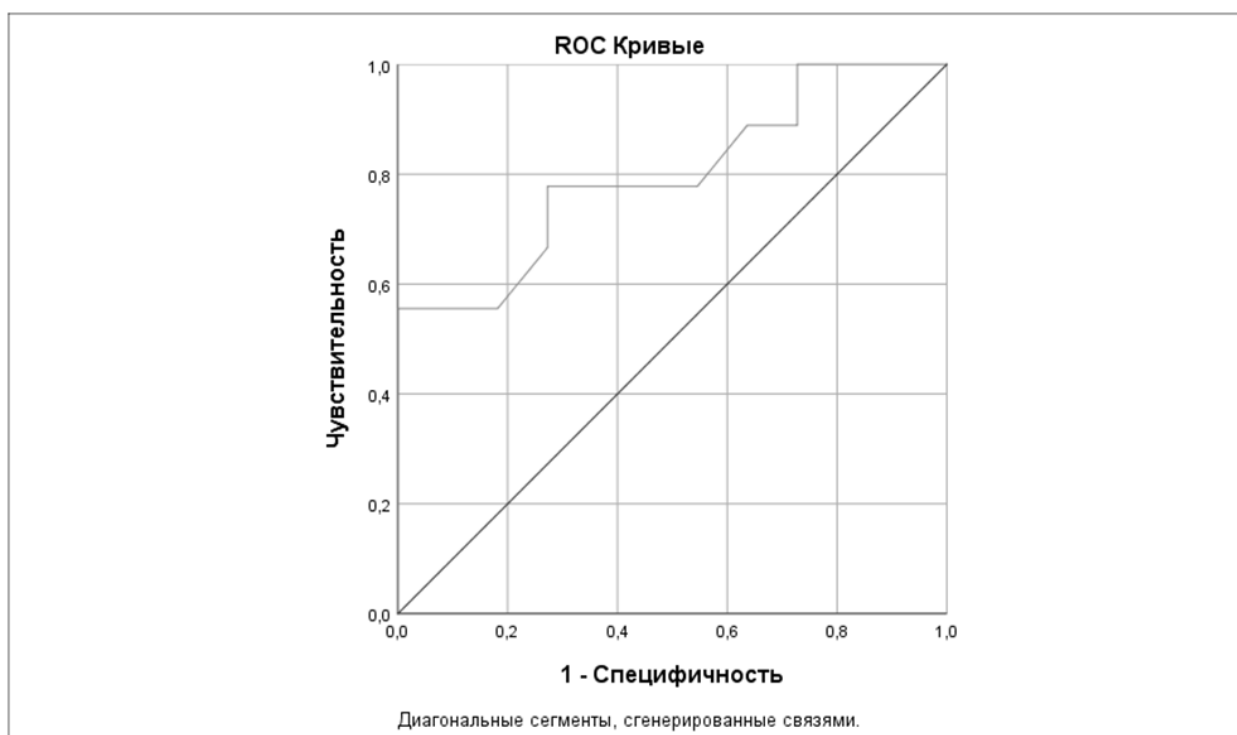


Рисунок 13 – ROC-кривые для числа тромбоцитарных МЧ (% событий)

Результаты проведённого ROC – анализа позволяют рассматривать повышение числа тромбоцитарных МЧ более 3,22 (% событий) в качестве

неблагоприятного маркера, указывающего на возможность летального исхода COVID-19.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что на фоне острого течения COVID-19 отмечается значимое увеличение количества циркулирующих МЧ тромбоцитарного происхождения, что может свидетельствовать о чрезмерной активации системы гемостаза. Значительное повышение количества тромбоцитарных МЧ у больных COVID-19 может быть прогностическим маркером неблагоприятного исхода новой коронавирусной инфекции.

3.4 Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов в острой стадии заболевания

Одну из важнейших ролей в регуляции реакций гемостаза и тромбоза играет эндотелий сосудов. В физиологических условиях интактный эндотелий обладает антитромбогенными свойствами, подавляя адгезию тромбоцитов и активацию коагуляции, поддерживая жидкое состояние крови. Известно, что при коронавирусной инфекции происходит повреждение эндотелия с развитием эндотелиальной дисфункции, которая является важным патогенетическим механизмом нарушений системы гемостаза при данном заболевании. Однако методы оценки эндотелиальной функции в клинической практике ограничены, часть из них составляют параметры, которые принято определять для характеристики состояния системы гемостаза и которые могут прямо или косвенно свидетельствовать о повреждении эндотелия.

Ряд исследованных нами показателей указывает на наличие изменений эндотелиальной выстилки сосудов у пациентов с острым течением COVID-19. Так, значимое повышение уровня vWF, общепризнанного маркера эндотелиальной дисфункции, выявленное в группе пациентов с острым течением заболевания в сравнении со здоровыми лицами (Me – 224,5%; Q1 – Q3: 199,5 – 452,2% против Me – 107,0%; Q1 – Q3: 91,0 – 134,5%, $p < 0,05$), однозначно свидетельствует о наличии

выраженных изменений эндотелия, которые сопровождаются потерей атромбогенности сосудистой стенки, развивающейся при коронавирусной инфекции.

Определенные параметры ТГТ также могут быть использованы для оценки дисфункции эндотелия. Так, известно, что добавление тромбомодулина в реакционную смесь при постановке ТГТ имитирует влияние эндотелия сосудистой стенки на параметры генерации тромбина. Именно данная особенность постановки теста позволяет оценить участие эндотелия в ограничении образования тромбина, которое выражается как ЧТМ ЭТП и ЧТМ Пик и отражает, в первую очередь, работу антикоагулянтной системы протеина С, нормальная функция которой тесно связана с состоянием эндотелиальной выстилки сосудов. Снижение ЧТМ по тому или другому показателю ТГТ свидетельствует не только о нарушениях в системе протеина С, но и о наличии изменений функции эндотелия. У обследованных нами пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции было выявлено резкое снижение ЧТМ по обоим показателям при сравнении с нормальными значениями (ЧТМ ЭТП Ме – 11,5%; Q1 – Q3: 3,9 – 25,5% против Ме – 52,9%; Q1 – Q3: 48,7 – 57,7%, $p < 0,000001$; ЧТМ Пик Ме – 4,0%; Q1 – Q3: 0,0 – 11,7% против Ме – 42,1%; Q1 – Q3: 36,2 – 47,0%, $p < 0,000001$), что указывает на угнетение работы системы протеина С, непосредственно связанной с развитием эндотелиальной дисфункции.

Одним из косвенных показателей, характеризующих состояние эндотелия сосудов, является уровень ГЦ в плазме крови. У больных COVID-19 в острой фазе заболевания отмечены высокие значения уровня ГЦ, которые составили: Ме – 17,47; Q1 – Q3: 13,7 – 21,9 мкмоль/мл), что превышает параметры здоровых лиц (Ме – 10,2; Q1 – Q3: 7,7 – 11,7 мкмоль/л) с высокой степенью значимости ($p < 0,000001$) и свидетельствует о наличии гипергомоцистеинемии у обследованных пациентов. Значительное повышение концентрации ГЦ в плазме крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией, так же, как и повышение антигена vWF, может свидетельствовать о выраженном повреждении эндотелия.

Таким образом, у пациентов в остром периоде COVID-19 наблюдаются значимые протромботические изменения, о чем однозначно свидетельствуют результаты, полученные при оценке как отдельных маркеров гиперкоагуляции, так и интегрального исследования – теста генерации тромбина. Снижение показателей, характеризующих уровень свободного PS и значение ЧТМ, указывает на низкую эффективность антикоагулянтной системы протеина С, что приводит к выраженному дисбалансу в системе гемостаза с прокоагулянтной направленностью изменений. Одним из патогенетических механизмов, лежащих в основе развития гиперкоагуляции, является эндотелиальная дисфункция, наличие которой на фоне коронавирусной инфекции подтверждается повышением уровня vWF, ГЦ, снижением ЧТМ, полученными в нашем исследовании. Прогностическими маркерами неблагоприятного течения и/или исхода заболевания может служить изменение ряда гемостатических показателей, таких как уровень D-димера, ПТ по Квику, активность АТ, активность и содержание vWF. Наличие у пациентов тромбоцитопении также имеет взаимосвязь с развитием летального исхода заболевания и может свидетельствовать о более тяжелом течении COVID-19. Чрезмерная активация тромбоцитарного звена гемостаза, на которую указывает количество тромбоцитарных МЧ, в десятки раз превышающее нормальные значения, также является маркером неблагоприятного исхода заболевания. Назначение НМГ, рекомендованное всем госпитализированным пациентам с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания, мало отражается на результатах исследования отдельных показателей системы гемостаза, что делает их мало пригодными для мониторинга данных профилактических мероприятий. При этом интегральный метод оценки системы гемостаза – ТГТ, учитывающий взаимодействие про- и антикоагулянтов, показывает снижение общего гемостатического потенциала уже на 3 – 5 сутки пребывания в стационаре. На 8 – 10 сутки отмечается значимое снижение показателей ТГТ в сравнении с исходными значениями, свидетельствующее об уменьшении степени гиперкоагуляции на фоне терапии. Полученные нами результаты обследования пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции позволяют считать ТГТ более информативным

методом для мониторинга антитромботической терапии по сравнению с определением отдельных гемостатических параметров. Применение унифицированного показателя ИК, рассчитываемого на основании параметров ТГТ, делает интерпретацию результатов данного исследования простой и понятной для врача любой специализации.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ

К настоящему времени установлено, что у лиц после перенесенной новой коронавирусной инфекции может сохраняться риск развития тромбоза, как артериального, так и венозного русла. Данный факт свидетельствует о том, что нарушения, характерные для системы гемостаза у пациентов в остром периоде заболевания, в какой-то мере могут оставаться и после выздоровления, способствуя развитию тромботических осложнений. Исследование состояния системы свёртывания крови у пациентов, перенесших COVID-19, даёт возможность оценить степень и направленность ее изменений, обусловленных заболеванием.

4.1 Влияние перенесённой коронавирусной инфекции на тромбоцитарное звено гемостаза

Тромбоцитарное звено гемостаза пациентов с COVID-19, находящихся в острой фазе заболевания, характеризуется выраженной активацией, о чём можно судить, в частности, по количеству тромбоцитарных МЧ, в десятки раз превышающему референтные значения. Также нами показано и описано в литературе наличие у пациентов тромбоцитопении, которая ассоциируется с более выраженными нарушениями плазменного звена гемостаза, а также более тяжелым течением заболевания и летальным исходом. Учитывая значимость изменений, выявленных у больных, находящихся в острой фазе заболевания, представлялось важным провести оценку тромбоцитарного гемостаза у лиц, перенесших COVID-19.

Среди обследованных пациентов не было выявлено ни одного человека с тромбоцитопенией. Однако помимо количества тромбоцитов большое значение имеют их качественные характеристики. Золотым стандартом оценки функциональной активности тромбоцитарного звена гемостаза является

исследование агрегации тромбоцитов с различными агонистами, которое и проводилось пациентам, перенесшим COVID-19. Пациенты были разделены на группы в зависимости от тяжести течения перенесенной новой коронавирусной инфекции.

4.1.1 Функциональная активность тромбоцитов пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме

Результаты, полученные при обследовании лиц, составляющих контрольную группу, а также пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести, представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Показатели максимальной агрегации тромбоцитов у пациентов, перенёвших COVID-19 в легкой форме, и здоровых лиц (Me (Q1 – Q3))

Индукторы агрегации	Показатели МА, %		p
	Пациенты (n=37)	Контрольная группа (n=68)	
АДФ 1 мкмоль	22,8 (18,7 – 28,5)	19,6 (16,5 – 22,6)	0,042
АДФ 5 мкмоль	61,6 (52,3 – 64,9)	54,1 (47,6 – 62,3)	0,000
Коллаген	65,1 (42,5 – 71,4)	53,3 (44,8 – 69,7)	0,288

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении группы пациентов с контрольной группой

У пациентов по сравнению со здоровыми лицами наблюдалось значимое повышение МА агрегации тромбоцитов под действием АДФ в обеих концентрациях. При использовании в качестве индуктора агрегации коллагена значимых различий между группой пациентов и контрольной группой получено не было. Это свидетельствует о том, что у обследованных пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию даже в легкой форме, наблюдается повышение функциональной активности тромбоцитов, что может быть дополнительным

фактором риска развития артериальных тромботических осложнений после перенесенного COVID-19, особенно у пациентов с сердечно-сосудистой патологией.

4.1.2 Функциональная активность тромбоцитов пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме

Параметры, полученные при оценке агрегационной способности тромбоцитов у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, представлены в Таблице 17. В связи с тем, что часть обследованных лиц находилась на антиагрегантной терапии и получала препараты АСК для профилактики ССО, оценка активности тромбоцитов проводилась в группах пациентов в зависимости от приема данных препаратов, а также в сравнении с показателями здоровых лиц.

Таблица 17 – Показатели максимальной агрегации тромбоцитов в зависимости от приема препаратов АСК у пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме (Me (Q1 – Q3))

Индукторы агрегации	Показатели МА, %			p
	Пациенты, не получающие АСК (n=26)	Пациенты, получающие АСК (n=24)	Контрольная группа (n=68)	
АДФ 1 мкмоль	23,4* (19,5 – 28,8)	16,4 (8,2 – 24,2)	19,6 (16,5 – 22,6)	0,01
АДФ 5 мкмоль	64,8* (54,9 – 71,9)	47,6 (34,3 – 58,6)	54,1 (47,6 – 62,3)	0,018
Коллаген	63,6 (42,7 – 67,8)	7,6* (3,7 – 12,3)	53,3 (44,8 – 69,7)	0,000

Примечания: * – $p < 0,025$ по сравнению с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени активации тромбоцитов после перенесенного заболевания у тех пациентов, которые не получали антиагрегантную терапию. При этом степень агрегационной активности со всеми индукторами практически не отличалась от таковой у лиц, заболевание которых протекало в лёгкой форме. На фоне приёма препаратов, содержащих АСК, выявлена значимая разница между обеими обследованными группами пациентов по всем показателям, наиболее выраженная в случае использования в качестве агрегирующего агента коллагена. МА агрегации тромбоцитов с коллагеном на фоне приема АСК была в 8 раз ниже, чем без приема данных препаратов (Me – 7,6%; Q1 – Q3: 3,7 – 12,3% против Me – 63,6%; Q1 – Q3: 42,7– 67,8%, $p < 0,000$), В то же время МА агрегации при добавлении АДФ в обеих концентрациях у пациентов, принимающих антиагреганты, не отличалась от значений здоровых лиц. Снижение МА агрегации под действием коллагена на фоне приема препаратов АСК является закономерным и отражает эффективность проводимой профилактики.

Таким образом, агрегационная способность тромбоцитов у пациентов, перенесших COVID-19 и не получавших антиагрегантную терапию на момент обследования, была значительно повышена и указывала на их высокую функциональную активность независимо от степени тяжести перенесенного заболевания. Приём препаратов АСК ограничивает степень активации тромбоцитов, что подтверждают результаты проведенного обследования.

4.2 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию

Исследование плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, включало выполнение рутинных коагулологических тестов, а также определение активности/содержания отдельных факторов свёртывания крови и основных естественных антикоагулянтов. Суммарная оценка состояния коагуляционного гемостаза проведена с использованием интегрального

ТГТ. Все пациенты были разделены на группы в зависимости от тяжести перенесенного заболевания.

4.2.1 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести

Показатели, полученные при исследовании скрининговых тестов коагулограммы, а также активности или содержания таких белков острой фазы, как FVIII и vWF, у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Показатели коагулограммы пациентов, перенёсших COVID-19 в легкой форме, в сравнении с контрольной группой (Me (Q1 – Q3))

Показатели коагулограммы	Пациенты с легким течением (n=39)	Контрольная группа (n=68)	p
иАПТВ	0,95 (0,90 – 1,05)	1,03 (0,99 – 1,07)	0,005
ПТ, %	103,0 (96,6 – 110,0)	93,4 (91,2 – 105,4)	0,005
ФГ, г/л	2,9 (2,5 – 3,4)	2,7 (2,5 – 2,9)	0,085
FVIII, %	133,6 (104,9 – 170,1)	104,0 (85,0 – 130,0)	0,001
vWF, %	115,0 (75,0 – 145,0)	97,0 (84,7 – 110,0)	0,527
Ag. vWF, %	132,0 (116,0 – 178,5)	107,0 (95,2 – 133,5)	0,003
D-димер, нг/мл	100,0 (75,8 – 105,3)	54,0 (48,0 – 85,0)	0,091

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении группы пациентов с контрольной группой

Несмотря на лёгкое течение коронавирусной инфекции, у обследованных пациентов имели место значимые различия исследуемых параметров с данными контрольной группы. Так, отмечалось снижение иАПТВ, повышение ПТ,

активности FVIII, содержания vWF. Концентрация ФГ и уровень D-димера имели тенденцию к увеличению относительно значений контрольной группы. Однако у основной части обследованных пациентов большинство показателей коагулограммы, несмотря на значимые отличия от параметров здоровых лиц, не выходили за границы референтных показателей за исключением уровня vWF, который у половины пациентов превышал верхнюю границу референтного интервала. Повышение уровня vWF является общепринятым маркером эндотелиальной дисфункции и свидетельствует о наличии значимых нарушений сосудистого эндотелия, сохраняющихся даже после заболевания, перенесенного в легкой форме.

Показатели, характеризующие состояние системы естественных антикоагулянтов, у пациентов с легким течением заболевания в сравнении со здоровыми лицами, приведены в Таблице 19.

Таблица 19 – Показатели активности и/или уровня естественных антикоагулянтов у пациентов, перенёвших COVID-19 в легкой форме, в сравнении с контрольной группой (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты с легким течением (n=39)	Контрольная группа (n=68)	p
AT, %	118,0 (109,3 – 120,5)	94,0 (81,5 – 105,5)	0,007
PC, %	114,5 (109,5 – 119,5)	102,0 (89,5 – 114,3)	0,966
PS, %	102,0 (100,3 – 120,3)	102,0 (86,0 – 109,0)	0,2

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении параметров пациентов и контрольной группы

У пациентов имеет место значимое, относительно контрольной группы, повышение активности AT, что может свидетельствовать о протективном значении данных изменений у перенесших заболевание в легкой форме. Активность PC и уровень свободного PS не имели значимых отличий от референтных параметров.

Показатели отдельных тестов, полученные при обследовании пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию в легкой форме, не позволили сделать однозначный вывод о состоянии плазменного гемостаза, так как на фоне повышения параметров, характеризующих активность/уровень ряда прокоагулянтов, имела место активация антикоагулянтной системы, которая выражалась в повышении активности АТ. В связи с этим для оценки общего гемостатического потенциала всем пациентам проводили определение динамики генерации тромбина с помощью ТГТ (Таблица 20).

Таблица 20 – Показатели теста генерации тромбина у пациентов, перенёсших COVID-19 в легкой форме, в сравнении с контрольной группой (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты с легким течением (n=39)	Контрольная группа (n=68)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1577,9 (1372,2 – 1989,2)	1642,3 (1489,9 – 1777,0)	0,09
Пик (ТМ–), нмоль	204,2 (168,4 – 256,8)	285,6 (265,5 – 311,8)	0,002
ЭТП (ТМ+), нмоль×мин	1032,2 (787,3 – 1330,7)	872,0 (533,5 – 1390,5)	0,023
Пик (ТМ+), нмоль	174,8 (142,7 – 219,0)	173,3 (113,6 – 313,0)	0,749
ЧТМ ЭТП, %	37,0 (25,0 – 52,0)	52,9 (47,8 – 57,7)	0,008
ЧТМ Пик, %	17,0 (7,0 – 25,0)	42,1 (36,2 – 47,0)	0,000
ИК	2,8 (2,1 – 4,1)	1,9 (1,3 – 2,5)	0,003

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении показателей группы пациентов и контрольной группы

В группе пациентов в сравнении с контрольной группой выявлены значимые изменения показателей ТГТ. Так, в результате добавления ТМ показатели, характеризующие максимальную концентрацию тромбина, а также эндогенный потенциал тромбина не достигали тех значений, которые могли бы свидетельствовать о нормальной чувствительности к ТМ. Данная особенность

явилась причиной выявления низких значений ЧТМ, в сравнении с контрольной группой, как по показателю Пик, так и по значению ЭТП, что указывает на низкий антикоагулянтный потенциал и считается общепризнанным фактором риска развития тромботических осложнений. Показатель ИК в группе пациентов был значимо выше параметров контрольной группы, что говорит о прокоагулянтной направленности изменений гемостатического баланса, сохраняющейся после перенесенной новой коронавирусной инфекции даже легкой степени тяжести.

Таким образом, проведенное исследование состояния плазменного звена гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, свидетельствует о наличии прокоагулянтных изменений, выражающихся в повышении отдельных коагуляционных параметров на фоне активации антикоагулянтной системы. Однако, несмотря на повышение активности АТ, общий гемостатический потенциал, согласно результатам ТГТ, остается выше нормы.

4.2.2 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме

В связи с тем, что более половины пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, на момент обследования получали ПОАК, было выделено две группы в зависимости от приема данных препаратов. Сравнение параметров, характеризующих плазменное звено гемостаза, проводили как со здоровыми лицами, так и между группами пациентов в зависимости от приема ПОАК. Результаты, полученные при обследовании пациентов, представлены в Таблицах 21–23.

Таблица 21 – Показатели коагулограммы пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от приема ПОАК (Ме (Q1 – Q3))

Показатели коагулограммы	Пациенты, не получающие ПОАК (n=34)	Пациенты, получающие ПОАК (n=43)	Контрольная группа (n=68)	p
иАПТВ	0,90* (0,87 – 0,97)	1,01* (0,91 – 1,01)	1,03 (0,99 – 1,07)	0,009
ПТ, %	107,0* (92,2 – 112,5)	90,2* (83,3 – 98,6)	93,4 (91,2 – 105,4)	0,000
ФГ, г/л	3,4* (2,95 – 3,94)	3,1* (2,73 – 4,03)	2,7 (2,5 – 2,9)	0,471
FVIII, %	159,5* (129,3 – 185,0)	166,0* (131,0 – 213,3)	104,0 (85,0 – 130,0)	0,369
vWF, %	152,5* (120,0 – 183,8)	185,0* (145,0 – 240,0)	97,0 (84,7 – 110,0)	0,052
Аг. vWF, %	171,6* (122,3 – 194,8)	197,5* (132,2 – 210,0)	107,0 (95,2 – 133,5)	0,208
D-димер, нг/мл	156,0* (98,0 – 214,0)	130,5* (101,3 – 243,5)	54,0 (48,0 – 85,0)	0,714

Примечания: * – $p < 0,025$ по сравнению с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Значимые различия между двумя группами больных выявлены только по значениям иАПТВ и ПТ, что может отражать влияние принимаемых антикоагулянтов на увеличение времени, необходимого для появления первых нитей фибрина, при выполнении скрининговых тестов, однако в большинстве случаев данные параметры находились в пределах референтных интервалов. В каждой обследованной группе обнаружены повышенные, относительно показателей здоровых лиц, значения таких параметров, как концентрация ФГ, активность FVIII, активность и содержание vWF, что указывает на наличие прокоагулянтных изменений и свидетельствует о наличии эндотелиальной дисфункции независимо от получаемой антитромботической терапии. Увеличение концентрации D-димера является одним из важных признаков выраженной тромбинемии и активации гемостаза. Проведенное исследование показало, что

уровень D-димера у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, остаётся выше значений контрольной группы, однако не выходит за границы референтных интервалов. Среди обследованных пациентов у 40 человек была ранее обнаружена сердечно-сосудистая патология (ГБ, ИБС или их сочетание), в связи с этим мы оценили параметры коагулограммы таких пациентов в сравнении с лицами, не имеющими данной патологии. В группе больных с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями уровень D-димера превышал соответствующие показатели тех пациентов, у которых подобная сопутствующая патология отсутствует (Ме – 160,0 нг/мл; Q1 – Q3: 126,6 – 263,0 нг/мл, против Ме – 107,0 нг/мл; Q1 – Q3: 84,0 – 179,5 нг/мл, соответственно, $p = 0,0059$).

У всех пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, оценивали работу системы естественных антикоагулянтов в зависимости от приема ПОАК. В Таблице 22 представлены полученные результаты.

Таблица 22 – Показатели активности и/или уровня естественных антикоагулянтов у пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от приема ПОАК (Ме (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты, не получающие ПОАК (n=34)	Пациенты, получающие ПОАК (n=43)	Контрольная группа (n=68)	p
AT, %	103,0 (91,0 – 109,0)	106,0* (97,5 – 112,5)	94,0 (81,5 – 105,5)	0,299
PC, %	114,5* (104,3 – 128,0)	121,0* (107,0 – 132,0)	102,0 (89,5 – 114,3)	0,372
PS, %	105,5 (95,8 – 117,0)	107,5 (95,0 – 118,0)	102,0 (86,0 – 109,0)	0,529

Примечания: * – $p < 0,025$ по сравнению с контрольной группой, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Между пациентами, получающими ПОАК, и больными, которые уже завершили курс антикоагулянтов на момент обследования, не отмечено значимых

различий ни по одному из показателей. В обеих группах уровень свободного PS не отличался от референтных интервалов, тогда как активность PC была выше одноименного показателя здоровых лиц, что, возможно, отражает компенсаторную реакцию на наличие изменений, способствующих развитию гиперкоагуляции. У больных, принимающих ПОАК, активность антитромбина превышала значения контрольной группы, однако выраженной разницы с параметрами пациентов, закончивших приём антикоагулянтных препаратов, а также отличий от референтного интервала отмечено не было.

Таким образом, приведенные в таблицах 21 и 22 данные не позволяют однозначно судить о суммарном действии про- и антикоагулянтов и сделать вывод об эффективности проводимой антитромботической терапии. Учитывая данные особенности, провели сравнительный анализ показателей ТГТ, полученных у пациентов в зависимости от приёма ПОАК (Таблица 23).

Таблица 23 – Показатели теста генерации тромбина у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от приёма ПОАК (Ме (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты, не получающие ПОАК (n=34)	Пациенты, получающие ПОАК (n=43)	Контрольная группа (n=68)	p
ЭТП (ТМ-), нМОЛЬ×МИН	1550,7 (1295,4 – 1823,4)	1305,1* (998,0 – 1657,1)	1642,3 (1489,9 – 1777,0)	0,067
Пик (ТМ-), нМОЛЬ	186,4* (163,2 – 225,0)	105,5* (70,0 – 161,9)	285,6 (265,5 – 311,8)	0,000
ЭТП (ТМ+), нМОЛЬ×МИН	956,1,0* (735,9 – 1124,3)	629,6 (398,9 – 866,8)	759,0 (614,1 – 885,5)	0,00094
Пик (ТМ+), нМОЛЬ	164,3 (128,7 – 183,9,0)	82,0* (57,9 – 125,6)	161,8 (140,6–185,0)	0,00039
ЧТМ ЭТП, %	42,0* (27,4 – 50,0)	55,0 (46,3 – 62,0)	52,9 (48,7 – 57,7)	0,006
ЧТМ Пик, %	11,0* (4,0 – 28,0)	20,0* (13,0 – 28,3)	42,1 (36,2 – 47,0)	0,120
ИК	2,7* (1,9 – 3,6)	1,7 (1,0 – 2,5)	1,9 (1,3 – 2,5)	0,003

Примечания: * – $p < 0,025$ при сравнении показателей групп пациентов с контрольной группой, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

У пациентов, принимающих ПОАК, имело место снижение количественных показателей генерации тромбина (ЭТП и Пик) не только по сравнению со значениями пациентов, не получающих данные препараты, но и относительно соответствующих параметров здоровых лиц. При этом у больных, которые продолжали профилактический прием антикоагулянтов, ЧТМ по показателю ЭТП не отличалась от контрольных параметров и значимо превышала данный показатель в группе больных, не получающих антикоагулянтные препараты. В то же время, ЧТМ по показателю Пик оставалась ниже нормальных значений в обеих группах пациентов, свидетельствуя лишь о частичном восстановлении работы системы протеина С на фоне приема антикоагулянтов. Обнаруженные по

результатам ТГТ особенности состояния плазменного звена гемостаза позволяют говорить о снижении антикоагулянтного потенциала, более выраженном в группе пациентов, не получающих антикоагулянтные препараты. Показатель ИК пациентов, принимавших ПОАК, не отличался от соответствующего показателя здоровых лиц, свидетельствуя о восстановлении гемостатического баланса на фоне проводимой профилактики. В то же время, значение ИК, выявленное у пациентов, не получающих антикоагулянты, было достоверно выше одноименных параметров на фоне приёма ПОАК, что указывало на сохранность дисбаланса в системе гемостаза после перенесенной в тяжелой или среднетяжелой форме новой коронавирусной инфекции.

При оценке состояния системы гемостаза в зависимости от срока, прошедшего после перенесённого заболевания, в обследуемых группах по большинству показателей значимых различий выявлено не было. Для пациентов, обследованных в первый месяц, в срок от одного до трех и от трех до пяти месяцев после выздоровления, были характерны идентичные изменения параметров коагулограмм и показателей активности и/или уровня естественных антикоагулянтов. Однако значимые различия были выявлены между параметрами, полученными у пациентов, обследованных в ранние сроки после заболевания и через три – пять месяцев. Так, чувствительность по показателю ЭТП у пациентов, обследованных через один месяц, составляла: Me – 53,0%; Q1 – Q3: 40,0 – 62,0%, тогда как на более поздних сроках (три – пять месяцев после заболевания) данный параметр оказался значимо ниже и составлял: Me – 36,0%; Q1 – Q3: 27,5 – 50,5, $p = 0,025$. Кроме того, имела место выраженная тенденция к увеличению ИК у пациентов, обследованных в более поздние сроки после перенесённой новой коронавирусной инфекции (один месяц против трех – пяти месяцев): Me – 1,8; Q1 – Q3: 1,1 – 2,8 против Me – 2,4; Q1 – Q3: 1,7 – 3,1, $p = 0,085$. Направленность выявленных изменений свидетельствует о росте гемостатического потенциала по мере увеличения срока после перенесенного заболевания, хотя логично было бы предположить обратную тенденцию. Возможно, данная особенность связана с увеличением числа лиц, прекративших со временем профилактику ВТЭО. Так,

среди пациентов, обследованных в ранние сроки после перенесенного заболевания, ПОАК получали 85% пациентов, при обследовании через один – три месяца число таких пациентов сократилось до 60%, а через три – пять месяцев – до 30%.

Проведенное исследование плазменного звена гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в целом показало наличие разнонаправленных изменений, что, вероятно, обусловлено как компенсаторной активацией антикоагулянтного звена, так и приемом антикоагулянтных препаратов. При этом у пациентов, не получающих ПОАК, на момент исследования отмечались прокоагулянтные изменения, выраженные в повышении как отдельных коагуляционных тестов, так и параметров ТГТ. ТГТ показал практически полную нормализацию показателей на фоне приема антикоагулянтных препаратов и оказался более информативным методом мониторинга их эффективности у пациентов, перенесших COVID-19, в сравнении с показателями коагулограммы.

4.2.3 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от наличия тромботических осложнений

Среди пациентов, перенесших заболевание в тяжелой и среднетяжелой форме, у 16 (20,8%) человек развились различные тромботические осложнения. Для оценки особенностей состояния системы гемостаза сравнивали показатели, полученные у больных с тромботическими осложнениями, с параметрами лиц, перенесших неосложненную тяжелую и среднетяжелую формы заболевания. Антикоагулянтные препараты принимали больные обеих групп. Параметры, полученные в данных группах пациентов, представлены в Таблицах 24 – 26.

Таблица 24 – Показатели коагулограммы пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от наличия тромботических осложнений (Me (Q1 – Q3))

Показатели коагулограммы	Тромбоз + (n=16)	Тромбоз - (n=27)	Контрольная группа (n=68)	p
иАПТВ	0,94* (0,89 – 1,03)	1,0 (0,94 – 1,04)	1,03 (0,99 – 1,07)	0,234
ПТ, %	90,2 (87,7 – 104,8)	90,4* (81,5 – 97,5)	93,4 (91,2 – 105,4)	0,269
ФГ, г/л	3,2* (2,4 – 3,6)	3,2* (2,8 – 4,0)	2,73 (2,5 – 2,9)	0,321
FVIII, %	164,5* (129,5 – 204,5)	184,0* (140,0 – 218,5)	104,0 (85,0 – 130,0)	0,706
vWF, %	185,0* (132,5 – 195,0)	190,0* (150,0 – 270,0)	97,0 (84,7 – 110,0)	0,276
Аг. vWF, %	203,1* (170,6 – 209,3)	197,0* (124,3 – 216,5)	107,0 (95,2 – 133,5)	0,884
D-димер, нг/мл	109,5* (100,0 – 190,0)	143,0* (121,0 – 252,0)	54,0 (48,0 – 85,0)	0,253

Примечания: * – $p < 0,025$ при сравнении групп пациентов с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

У всех пациентов независимо от наличия тромботических осложнений практически все параметры коагулограммы превышали таковые в группе здоровых лиц, однако только показатели, являющиеся маркерами гиперкоагуляции, такие как активность FVIII и vWF, а также Аг. vWF, превышали референтные значения. В то же время между показателями обеих обследованных групп не выявили значимых различий ни по одному параметру, что, возможно, обусловлено приемом всеми пациентами антикоагулянтных препаратов в различных дозировках (в профилактических – у лиц без ВТЭО и в лечебных – у пациентов с развившимися тромботическими осложнениями). Результаты сравнения уровня и/или активности естественных антикоагулянтов у пациентов с тромбозами и без наличия таковых представлены в Таблице 25.

Таблица 25 – Показатели активности и/или уровня естественных антикоагулянтов у пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от наличия тромботических осложнений (Me (Q1 – Q3))

Показатели	Тромбоз+ (n=16)	Тромбоз– (n=27)	Контрольная группа (n=68)	p
АТ, %	105,5* (94,0 – 112,0)	106,0* (101,5 – 113,5)	94,0 (81,5 – 105,5)	0,764
РС, %	126,0* (117,0 – 132,5)	120,0* (99,0 – 130,8)	102,0 (89,5 – 114,3)	0,280
PS, %	98,5 (92,8 – 107,0)	111,0* (99,5 – 124,0)	102,0 (86,0 – 109,0)	0,081

Примечания: * – $p < 0,025$ при сравнении групп пациентов с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

По полученным данным можно судить об активации естественных антикоагулянтов у пациентов на фоне приёма ПОАК. В обеих группах пациентов отмечено повышение активности АТ и РС в сравнении с контролем, несмотря на это активность АТ у большинства пациентов находилась в пределах референтного интервала. Уровень же свободного PS был повышен только у тех пациентов, у которых не было тромботических осложнений. Данная особенность даёт основание предполагать протективное влияние повышенного уровня PS у пациентов без тромботических осложнений. По остальным показателям разницы между двумя группами пациентов выявлено не было. Также не отмечено различий между больными с тромботическими осложнениями и без их наличия по параметрам ТГТ, которые приведены в Таблице 26.

Таблица 26 – Показатели ТГТ у пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от наличия тромботических осложнений (Ме (Q1–Q3))

Показатели	Тромбоз+ (n=16)	Тромбоз– (n=27)	Контрольная Группа (n=34)	p
ЭТП (ТМ–), нмоль×мин	1426,9 (1175,7 – 1657,9)	1165,8* (930,8 – 1445,1)	1642,3 (1489,9 – 1777,0)	0,168
Пик (ТМ–), нмоль	110,7* (77,4 – 155,6)	111,9* (65,1 – 168,3)	285,6 (265,5 – 311,8)	0,871
ЧТМ ЭТП, %	53,5 (38,8 – 57,8)	52,4 (44,0 – 62,0)	52,9 (47,8 – 57,7)	0,604
ЧТМ Пик, %	23,0* (18,3 – 25,7)	16,0* (9,3 – 32,8)	42,1 (36,2 – 47,0)	0,284
ИК	1,8 (1,5 – 2,1)	1,79 (1,1 – 2,8)	1,9 (1,3 – 2,5)	0,987

Примечания: * – $p < 0,025$ при сравнении групп пациентов с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Представленные данные свидетельствуют об отсутствии значимой разницы между двумя обследованными группами пациентов по всем исследованным параметрам. Обращали на себя внимание показатели ЧТМ, рассчитанные по проценту падения ЭТП, которые нормализовались на фоне приёма ПОАК в равной степени в обеих группах больных.

Проведенный анализ показателей плазменного гемостаза у пациентов, перенёсших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме в зависимости от наличия тромботических событий, не выявил значимых различий у лиц с осложненным и неосложненным течением заболевания, за исключением более выраженной активации антикоагулянтной системы у пациентов без наличия тромбоза, что может носить протективный характер.

4.3 Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию

В настоящее время известно, что дисфункция эндотелия играет важнейшую роль в патогенезе нарушений гемостаза. Выраженная эндотелиальная дисфункция, обнаруженная в остром периоде COVID-19, вероятно, сохраняется и после перенесенного заболевания, что вносит вклад в повышенный риск развития ВТЭО. Учитывая мнение ряда исследователей о том, что проявления постковидного синдрома могут продолжаться шесть, двенадцать месяцев, а у части наблюдаемых пациентов и больше года, высока вероятность обнаружения маркеров эндотелиальной дисфункции после выздоровления. В Таблице 27 приведены результаты определения тех показателей, по изменению которых можно судить о наличии эндотелиальной дисфункции (Аг. vWF, ЧТМ ЭТП и ЧТМ Пик) у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию разной степени тяжести. Также приведены данные, характеризующие уровень ГЦ, увеличение которого является косвенным показателем неблагополучия эндотелия и нарушения его функции.

Таблица 27 – Показатели, характеризующие состояние эндотелия у пациентов, перенёвших COVID-19 в лёгкой или тяжелой и среднетяжелой форме (Ме (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты с тяжелой и среднетяжелой формой (n=64)	Пациенты с лёгкой формой (n=36)	Контрольная группа (n=34)	p
Аг. vWF, %	186,9* (130,2 – 208,7)	132,0* (101,5 – 113,5)	107,0 (91,0 – 133,5)	0,048
ЧТМ ЭТП, %	46,5 (31,65 – 58,0)	37,5* (25,5 – 52,0)	52,9 (47,8 – 57,37)	0,095
ЧТМ Пик, %	17,0* (6,0 – 28,0)	17,4* (7,8 – 25,3)	42,1 (36,2 – 47,0)	0,860
ГЦ, мкмоль/л	9,7 (7,7 – 10,6)	8,2 (7,5 – 9,5)	10,2 (7,7 – 11,7)	0,169

Примечания: * – $p < 0,025$ при сравнении групп пациентов с контрольной группой с учётом поправки Бонферрони, p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Проведенный анализ полученных результатов показал наличие патологических значений показателей, оценивающих состояние эндотелия. При этом только содержание vWF значимо различается между пациентами, перенесшими COVID-19 с разной степенью тяжести. Чувствительность к ТМ по показателю ЭТП у пациентов после тяжело перенесенного заболевания почти достигает референтных параметров. Однако легкое течение ассоциируется с более низкими значениями ЧТМ по ЭТП в сравнении с более тяжелым течением заболевания, что указывает на недостаточную эффективность влияния эндотелия на ограничение генерации тромбина. Данная тенденция может быть обусловлена действием антикоагулянтных препаратов, которые получают пациенты в течение некоторого времени после перенесенного в тяжелой или среднетяжелой форме заболевания, но не получают в случае легкого течения. Чувствительность к ТМ по показателю Пик свидетельствует о выраженном нарушении функции эндотелия независимо от степени тяжести перенесенной новой коронавирусной инфекции. У

обследованных пациентов не были обнаружены высокие значения уровня ГЦ, косвенного маркера эндотелиальной дисфункции.

4.4 Микрочастицы плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию

Активация системы свёртывания крови в остром периоде COVID-19 обусловлена наличием выраженной эндотелиальной дисфункции, активацией тромбоцитов и плазменного звена гемостаза, развитием межклеточных взаимодействий, что сопровождается образованием МЧ. Сохранность выраженной активации системы гемостаза после перенесённого заболевания независимо от тяжести предполагает генерацию МЧ, которые попадают в циркуляцию и оказывают влияние на гемостатический потенциал плазмы крови за счёт прокоагулянтных фосфолипидов и тканевого фактора, экспонированных на их поверхности. В связи с этим проводилась оценка состава циркулирующих МЧ, а также их участия в образовании тромбина у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию различной степени тяжести.

4.4.1 Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме

Результаты, полученные при исследовании количества и происхождения МЧ плазмы крови с помощью проточной цитометрии у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, представлены в Таблице 28.

Таблица 28 – Характеристика МЧ у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, и здоровых лиц (Me (Q1 – Q3)).

Клеточный маркер (% событий)	Пациенты (n=22)	Контрольная группа (n=23)	p
CD41+ (% событий)	0,32 (0,16 – 0,42)	0,13 (0,09 – 0,26)	0,002
CD45+ (% событий)	0,01 (0,0 – 0,01)	0,01 (0,0 – 0,01)	0,414
CD144+ (% событий)	0,02 (0,01 – 0,02)	0,04 (0,01 – 0,05)	0,237

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

У обследованных пациентов в сравнении с контрольной группой выявлено значимое повышение количества МЧ тромбоцитарного происхождения (CD41+). Количество МЧ лейкоцитарного (CD45+) и эндотелиального (CD144+) происхождения значимо не различалось между пациентами и здоровыми лицами. На Рисунке 14 представлены данные, полученные на проточном цитометре относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента Н., перенесшего COVID-19 в легкой форме, и здорового донора.

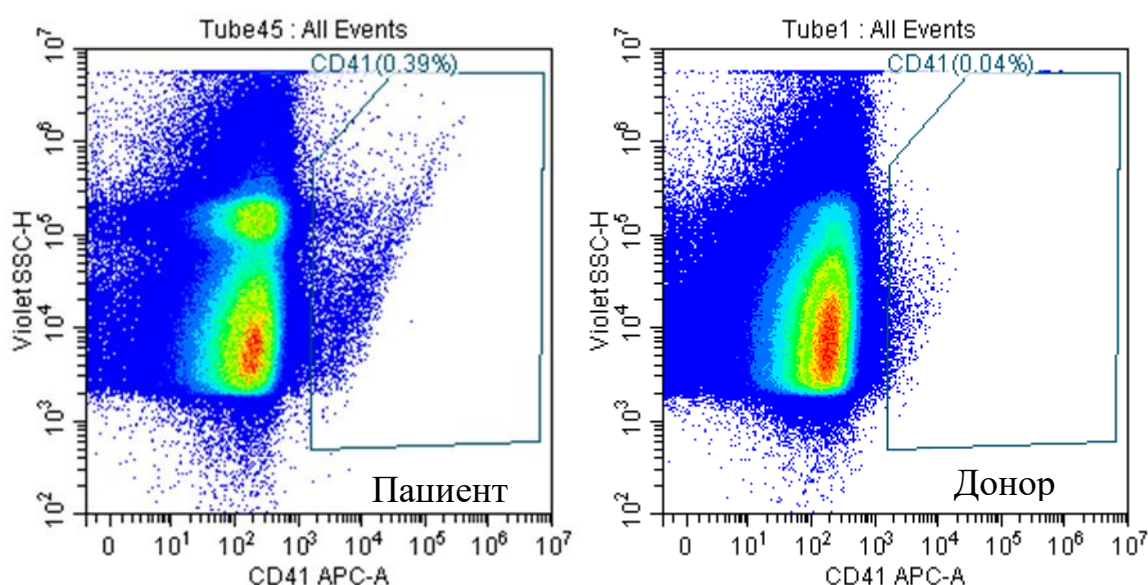


Рисунок 14 – Тромбоцитарные МЧ у больного, перенесшего COVID-19, и здорового донора

4.4.2 Функциональная активность микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме

Метод калиброванной автоматизированной тромбинографии позволяет определять динамику генерации тромбина, зависимую или от ТФ, или от прокоагулянтных фосфолипидов, локализованных на поверхности МЧ. С этой целью при постановке теста используют различные триггерные реагенты, которые включают отрицательно заряженные фосфолипиды («MP-Reagent») или рекомбинантный ТФ («PRP-Reagent»), предназначенные для оценки образования тромбина, обусловленного ТФ или прокоагулянтными фосфолипидами соответственно. Оценка параметров, полученных при исследовании функциональной активности МЧ пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, с помощью ТГТ представлена в Таблице 29.

Таблица 29 – Параметры генерации тромбина, обусловленной МЧ, у пациентов с COVID-19, перенесших заболевание в легкой форме, и здоровых лиц (Me (Q1 – Q3))

Параметры	«PRP-Reagent»		«MP-Reagent»	
	Пациенты (n=34)	Контрольная группа (n=30)	Пациенты (n=34)	Контрольная группа (n=30)
ЭТП, нмоль×мин	562,5* (428,3 – 918,6)	471,8 (384,2 – 564,0)	1263,4* (721,8 – 1800,4)	566,5 (453,2 – 708,0)
Пик, нмоль	24,4* (15,5 – 36,1)	18,4 (12,3 – 20,2)	151,6* (87,1 – 214,8)	46,3 (32,9 – 67,2)
V, нмоль/мин	2,2* (1,2 – 3,2)	1,6 (1,2 – 2,1)	27,5* (15,3 – 42,5)	7,3 (5,2 – 12,8)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении группы пациентов с контрольной группой

Данные, полученные в группе пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, свидетельствуют о значимом повышении генерации тромбина, обусловленной МЧ. Все параметры, полученные при использовании реактива «PRP-Reagent», которые позволяют оценивать вклад в гемостатический процесс

отрицательно заряженных прокоагулянтных фосфолипидов, были достоверно выше у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, в сравнении со здоровыми лицами. Применение реактива «MP-Reagent» дало возможность оценить участие ТФ в процессе образования тромбина. Оказалось, что в группе пациентов генерация тромбина, зависящая от ТФ, была более чем в два раза выше, чем в контрольной группе здоровых лиц. Полученные данные свидетельствуют об активном участии МЧ в реакциях гемостаза и тромбоза у пациентов после перенесенного заболевания. При этом именно ТФ, локализованный на микрочастицах, играет большую роль в запуске коагуляционного процесса и повышении образования тромбина у пациентов с легким течением заболевания.

Для оценки взаимосвязи количества МЧ и их коагуляционной активности был проведен корреляционный анализ. У пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, была выявлена выраженная прямая корреляция количества тромбоцитарных МЧ и скорости генерации тромбина в постановке ТГТ, оценивающей участие прокоагулянтных фосфолипидов в коагуляционном процессе ($r=0,651$, $p=0,029$).

4.4.3 Характеристика микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме

В рамках проведенного исследования определяли количество и происхождение МЧ с помощью проточной цитометрии у пациентов, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, полученные результаты представлены в Таблице 30.

Таблица 30 – Характеристика МЧ у пациентов, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, и здоровых лиц (Me (Q1 – Q3))

Клеточный маркер	Пациенты (n=19)	Контрольная группа (n=23)	p
CD41+ (% событий)	0,25 (0,15 – 0,45)	0,13 (0,09 – 0,26)	0,037
CD45+ (% событий)	0,01 (0,0 – 0,01)	0,01 (0,0 – 0,01)	0,315
CD144+ (% событий)	0,04 (0,02 – 0,05)	0,04 (0,01 – 0,05)	0,582

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Количество МЧ тромбоцитарного происхождения у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением новой коронавирусной инфекции превышало соответствующие значения контрольной группы. Так же, как и у лиц с легким течением COVID-19, в отношении МЧ лейкоцитарного и эндотелиального происхождения значимых различий между пациентами и здоровыми лицами получено не было. Также не обнаружено достоверных различий между пациентами с различной тяжестью заболевания. Это может быть обусловлено тем, что часть пациентов, перенесших заболевание в среднетяжелой и тяжелой форме, у которой ожидалось получение более выраженных изменений числа МЧ, принимала антиагрегантные и антикоагулянтные препараты, ограничивающие активацию клеточного звена гемостаза и генерацию тромбина. На Рисунке 15 представлены данные, полученные на проточном цитометре относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента Р., перенесшего COVID-19 в тяжелой форме, и здорового донора.

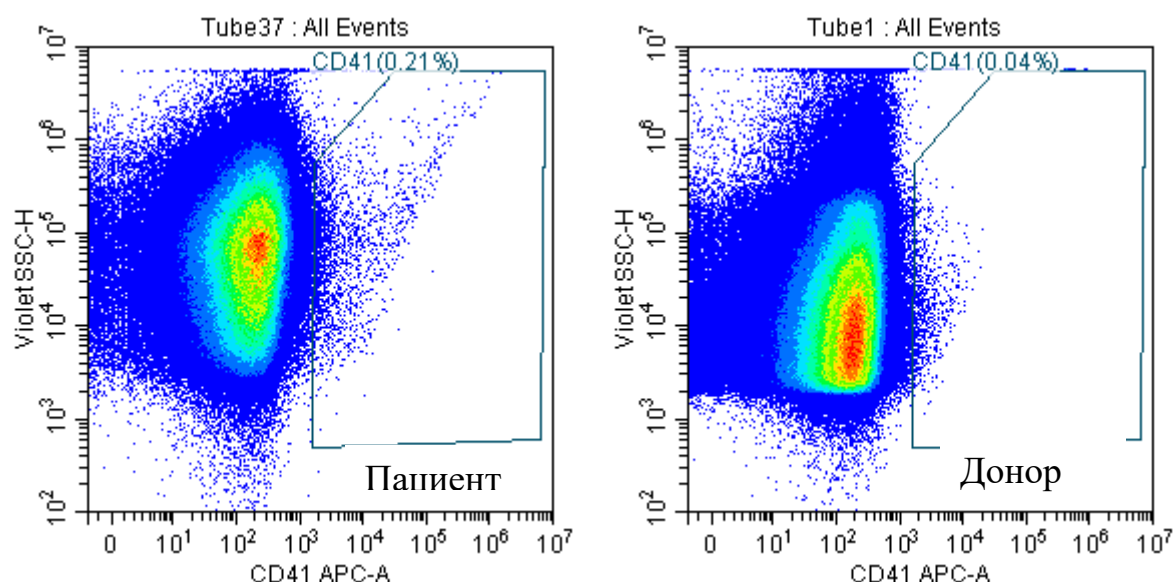


Рисунок 15 – Тромбоцитарные МЧ у больного, перенесшего COVID-19 в тяжелой форме, и здорового донора

4.4.4 Функциональная активность микрочастиц плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в тяжелой и среднетяжелой форме

Оценка параметров, полученных при исследовании функциональной активности МЧ с помощью ТГТ у пациентов, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, представлена в Таблице 31.

Таблица 31 – Параметры генерации тромбина, обусловленной МЧ, у пациентов, перенесших COVID-19 тяжелой и среднетяжелой степени (Me (Q1 – Q3))

Параметры	«PRP-Reagent»		«MP-Reagent»	
	Пациенты (n=62)	Контрольная группа (n=30)	Пациенты (n=62)	Контрольная группа (n=30)
ЭТП, нмоль×мин	437,2 (281,4 – 732,1)	471,8 (384,2 – 564,0)	769,8* (479,5 – 939,3)	566,5 (453,2 – 708,0)
Пик, нмоль	12,5 (8,4,5 – 22,1)	18,4 (12,3 – 20,2)	53,5 (36,8 – 81,2)	46,3 (32,9 – 67,2)
V, нмоль/мин	0,9* (0,5 – 1,6)	1,6 (1,2 – 2,1)	10,3 (5,8 – 18,7)	7,3 (5,2 – 12,8)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении группы пациентов с контрольной группой

У обследованных пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания не было выявлено столь значимых отличий от контрольной группы, как у лиц с легкой формой COVID-19. Так, при использовании реактива «PRP-Reagent», содержащего в качестве триггера ТФ и позволяющего оценивать вклад в гемостатический процесс отрицательно заряженных прокагулянтных фосфолипидов, локализованных на поверхности МЧ, было обнаружено значимое, относительно параметров здоровых лиц, снижение только скорости генерации тромбина. При использовании реактива «MP-Reagent», содержащего отрицательно заряженные фосфолипиды и позволяющего оценить участие в процессе образования тромбина ТФ, было отмечено повышение эндогенного потенциала тромбина в группе пациентов при сравнении с группой контроля. Отсутствие значительного повышения функциональной активности МЧ у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, может быть обусловлено текущим или недавним курсом приема ПОАК. Полученные нами результаты могут свидетельствовать о важной роли антикоагулянтов в ограничении участия МЧ в активации системы гемостаза после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

4.5 Ассоциация некоторых гемостатических показателей с иммунологическими изменениями у пациентов, перенесших COVID-19

Учитывая известную тесную связь между иммунной системой и системой свертывания крови, был проведен анализ основных параметров клеточного и гуморального иммунитета у пациентов, перенесших COVID-19. В группе больных, перенесших легкую форму заболевания, обнаружено значимое увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов (CD3+) и Treg (CD25+CD4+) по сравнению с группой контроля ($M \pm SD$) ($74,4 \pm 1,2\%$ против $68,6 \pm 1,1\%$ и $3,4 \pm 0,2\%$ против $1,9 \pm 0,2\%$, $p < 0,001$ и $< 0,05$ соответственно). В то же время выявлено снижение содержания В-лимфоцитов (CD19+) – ($M \pm SD$) $10,2 \pm 0,7\%$ и $13,9 \pm 0,9\%$ соответственно ($p < 0,001$). В группах со среднетяжелым и тяжелым течением

повышение содержания Treg имело еще более выраженный характер, также наблюдалось увеличение относительного содержания клеток с фенотипом CD3+DR+, соответствующим поздней активации Т-лимфоцитов – ($M \pm SD$) $7,7 \pm 0,4\%$ и $15,7 \pm 2,5\%$ соответственно против $3,9 \pm 0,2\%$ в группе доноров. Результаты определения показателей гуморального иммунитета у лиц, перенесших COVID-19, не выявили изменений, кроме снижения уровня IgA как при легком, так и тяжелом течении заболевания. Так, содержание IgA у пациентов, перенесших легкую и тяжелую формы COVID-19, оказалось ниже, чем у практически здоровых лиц: ($M \pm SD$) $2,3 \pm 0,1$ г/л и $2,0 \pm 0,4$ г/л против $2,8 \pm 0,1$ г/л соответственно ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ соответственно). Во всех группах пациентов отмечено достоверное ($p < 0,001$) и значительное увеличение содержания циркулирующих иммунных комплексов по сравнению с группой контроля, в особенности – малого размера (низкомолекулярных). Уровень ЦИК_{средн} у пациентов с легким, среднетяжелым и тяжелым течением болезни составил ($M \pm SD$) $53,9 \pm 3,1$, $61,8 \pm 3,8$ и $63,6 \pm 7,0$ усл.ед. соответственно против $34,1 \pm 3,6$ усл.ед. в группе контроля ($p < 0,001$). Уровень ЦИК_{низк} в тех же группах больных составлял ($M \pm SD$) $331,1 \pm 12,7$, $362,8 \pm 18,0$ и $325,4 \pm 22,5$ усл.ед. соответственно, что значимо ($p < 0,001$) превышало данный показатель в группе контроля ($122,5 \pm 11,9$ усл.ед.). Иммуноглобулин класса А играет роль в развитии инфекционно-воспалительных и аутоиммунных реакций, так же, как и ЦИК_{низк}, поэтому их изменения могут свидетельствовать о риске развития аутоиммунных процессов у лиц, перенесших COVID-19.

Положительные корреляционные связи были выявлены между содержанием Т-активированных лимфоцитов (CD3+DR+) и активностью FVIII, содержанием vWF и активностью АТ ($r = 0,578$, $r = 0,573$ и $r = 0,716$ соответственно, $p < 0,05$) у пациентов, перенесших тяжелую форму заболевания. В этой же группе пациентов была обнаружена положительная корреляционная связь между уровнем ЦИК и концентрацией фибриногена, а также уровнем D-димера ($r = 0,285$ и $r = 0,384$ соответственно, $p < 0,05$). Относительно показателей гуморального иммунитета отмечалась отрицательная корреляционная связь IgA с активностью vWF ($r = -0,320$). Повышение уровня активированных лимфоцитов, ЦИК и снижение IgA

отмечается в целом у пациентов после перенесенной коронавирусной инфекции. Наиболее выраженные иммунологические нарушения отмечались в период от 3 до 6-ти месяцев после перенесённого заболевания, когда также наблюдалось повышение тромботического потенциала на фоне отмены антикоагулянтных препаратов у большей части пациентов. Возможно, это связано с так называемыми не антикоагулянтными эффектами препаратов, используемых для антитромботической терапии, которые сейчас активно изучаются. Так, для ривароксабана описан противовоспалительный эффект, благодаря подавлению экспрессии молекул адгезии и активации моноцитов и макрофагов [133].

Для оценки взаимосвязи количества МЧ и их коагуляционной активности с иммунологическими изменениями проводили корреляционный анализ ряда параметров. Отмечена положительная корреляция высокой степени значимости ЦИК с параметрами ТГТ в постановке, оценивающей участие ТФ МЧ в генерации тромбина у пациентов, перенесших вирусную инфекцию в легкой форме. Так, корреляция показателей ЭТП, Пик и V со значениями ЦИК_{средн} составила: $r=0,762$, $p=0,028$; $r=0,976$, $p=0,0000$; $r=0,905$, $p=0,0020$ соответственно. В этой же группе больных отмечена прямая корреляция показателей ЦИК_{низк} и ЭТП ($r=0,875$, $p=0,0065$). Так же выявлена высокая положительная корреляционная связь между ЦИК_{средн} и уровнем IgM, который характеризует остроту инфекционного процесса ($r=0,929$, $p=0,0025$). У пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, значимых результатов корреляционного анализа получено не было. Релевантных связей параметров, характеризующих МЧ, с показателями клеточного иммунитета в обеих группах не обнаружено.

При оценке функционального состояния иммунной системы у пациентов с COVID-19 получены данные, свидетельствующие о длительном сохранении иммунологических нарушений в постковидном периоде, выражающиеся в повышенном содержании Т-регуляторных клеток, Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации, среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов при сниженном содержании иммуноглобулина А в сыворотке. Указанные изменения наиболее выражены в группах со

среднетяжелым и тяжелым течением перенесенной коронавирусной инфекции. При сравнении иммунологических особенностей в зависимости от срока обследования оказалось, что в период 3-6 месяцев с момента клинического выздоровления имелось временное усугубление нарушений иммунного ответа, выявлявшихся на ранних сроках. Вероятно, этот период требует особого внимания при планировании реабилитационных мероприятий для лиц, перенесших COVID-19.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ПО СИСТЕМЕ АВО НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И ТЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

5.1 Распределение пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию, по группам крови по системе АВО

Вопрос о влиянии различных групп крови по системе АВО на восприимчивость к COVID-19, а также на степень патологической активации системы гемостаза активно обсуждается в литературе, в связи с чем мы оценили распределение пациентов с новой коронавирусной инфекцией по группам крови.

Результаты ретроспективной оценки распределения по группам крови лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию, независимо от степени тяжести в сравнении с соответствующими данными по общей популяции жителей РФ представлены в Таблице 32.

Таблица 32 – Распределение пациентов, перенесших COVID-19, по группе крови АВО в сравнении с распределением групп крови среди населения РФ

АВО	Пациенты, перенесшие COVID-19		Население РФ
	n	%	%
О(I)	274	31,7	33
А(II)	319	36,9	36
В(III)	192	22,2	23
АВ(IV)	80	9,2	8
Всего	865	100	100

Распределение пациентов, перенесших COVID-19, по группам крови соответствует таковому в общей популяции жителей РФ. Как в общей популяции, так и среди заболевших COVID-19 преобладают представители группы крови А(II) [29]. На основании полученных результатов можно заключить, что на

восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 принадлежность к той или иной группе крови по типу ABO не оказывает влияния.

Результаты распределения группы крови ABO у пациентов с различной тяжестью новой коронавирусной инфекции представлены в Таблице 33.

Таблица 33 – Распределение групп крови ABO у пациентов, перенесших COVID-19, в зависимости от тяжести течения заболевания

ABO	Легкое течение		Среднетяжелое и тяжелое	
	n	%	n	%
O(I)	160	36,0	114	27,1
A(II)	140	31,5	179	42,5
B(III)	106	23,9	86	20,4
AB(IV)	38	8,6	42	10
Всего	444	100	421	100

Представленные данные свидетельствуют о том, что в группе с легким течением заболевания преобладали пациенты с группой крови O(I) ($\chi^2 = 8,01$; $p < 0,005$), а в группе с более тяжелым – пациенты с группой крови A(II) ($\chi^2 = 11,2$; $p < 0,001$). Количество пациентов с группами крови B(III) и AB(IV) в обеих группах не имело статистически значимых различий.

5.2 Влияние групповой принадлежности крови по системе ABO на показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза

Известно, что представители различных групп крови могут иметь отличия по ряду показателей, характеризующих плазменное звено гемостаза. Так, у представителей группы O(I) значения активности и/или содержания FVIII и vWF не достигают таковых у лиц с группой крови, отличающейся от O(I). Учитывая, что увеличение активности и/или содержания данных факторов свертывания играют большую роль в развитии прокоагулянтной направленности гемостатических

реакций, что может отражаться на особенностях течения COVID-19, была проведена оценка связи изменений системы гемостаза с групповой принадлежностью крови у ряда лиц, перенесших COVID-19. Пациенты были разделены в зависимости от группы крови и тяжести перенесённой инфекции.

5.2.1 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, в зависимости от групповой принадлежности крови

Результаты, оценивающие показатели ряда скрининговых тестов, а также активность/содержание отдельных факторов свёртывания крови у пациентов, переболевших COVID-19 в легкой форме, представлены в Таблице 34. Пациенты разделены на группы в зависимости от групповой принадлежности крови.

Таблица 34 – Показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, в зависимости от групповой принадлежности крови (Me (Q1 – Q3))

Показатели коагулограммы	Пациенты с группой крови O(I) (n = 13)	Пациенты, группа крови которых отличается от O(I) (n = 24)	p
иАПТВ	0,93 (0,9 – 1,01)	0,96 (0,9 – 1,05)	0,697
ПТ, %	103,2 (99,5 – 110,0)	103,0 (98,5 – 106,8)	0,838
ФГ, г/л	3,1 (2,5 – 3,6)	2,9 (2,9 – 3,3)	0,813
FVIII, %	106,5 (92,8 – 134,3)	148,5 (123,6 – 169,0)	0,018
vWF, %	81,0 (68,5 – 103,8)	130,3 (76,3 – 165,0)	0,022
Аг. vWF, %	132,5 (116,0 – 142,2)	194,0 (186,3 – 196,9)	0,219
D-димер, нг/мл	104,0 (83,5 – 123,5)	103,0 (86,2 – 106,4)	0,797

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

Данные, представленные в таблице, указывают на то, что принадлежность обследованных пациентов к группе крови O(I) имеет определённое влияние на показатели гемостаза. Так, у пациентов, принадлежащих к группе крови O(I), активность FVIII и vWF, была достоверно ниже соответствующих показателей у лиц, имеющих группу крови, отличную от O(I). Остальные исследованные параметры достоверно не различались у пациентов обеих групп. Высокие значения как активности FVIII, так и vWF являются независимыми факторами риска ВТЭО и свидетельствуют о росте гемостатического потенциала. Увеличение уровня vWF свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции, которая ассоциируется с нарушением атромбогенных свойств эндотелия и активацией системы гемостаза [8; 80]. Выявленные особенности свидетельствуют о более выраженной прокоагулянтной направленности изменений системы гемостаза у пациентов, группа крови которых отличается от O(I), что может быть ассоциировано у них с высоким риском развития ВТЭО.

5.2.2 Особенности плазменного звена гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от групповой принадлежности крови

Результаты определения отдельных показателей, характеризующих плазменное звено гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, представлены в Таблице 35. Пациенты разделены на группы в зависимости от принадлежности к той или иной группе крови по системе ABO.

Таблица 35 – Показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелой и тяжелой степени, в зависимости от групповой принадлежности крови (Me (Q1 – Q3))

Показатели коагулограммы	Пациенты с группой крови O(I) (n=14)	Пациенты, группа крови которых отличается от O(I) (n=19)	p
иАПТВ	0,94 (0,87 – 1,03)	0,95 (0,88 – 0,98)	0,8077
ПТ, %	96,3 (90,1 – 108,5)	97,1 (88,5 – 110,0)	0,6394
ФГ, г/л	3,5 (2,9 – 4,1)	3,6 (2,9 – 4,1)	0,5111
FVIII, %	138,0 (108,3 – 160,8)	190,5 (139,3 – 217,0)	0,0494
vWF, %	135,3 (120,2 – 150,0)	174,1 (125,0 – 201,9)	0,3324
Ag. vWF, %	135,7 (107,2 – 182,7)	196,1 (135,5 – 200,8)	0,3425
D-димер, нг/мл	143,5 (86,2 – 173,4)	152,5 (96,25 – 246,0)	0,9532

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов

У обследованных пациентов наблюдались различия показателей плазменного звена гемостаза в зависимости от групповой принадлежности крови. Однако значимые различия были установлены только между параметрами, оценивающими активность FVIII. У пациентов с O(I) группой крови активность FVIII была ниже, чем у представителей других групп. Более тяжелое течение COVID-19 ассоциируется с выраженным ростом белков острой фазы, реагирующих на тяжесть заболевания. К таким белкам относятся FVIII и vWF, активность которых у переболевших в тяжелой форме превышает показатели пациентов, заболевание которых отличалось лёгким течением. Более выраженные изменения состояния системы свёртывания крови на фоне среднетяжелого и тяжелого течения заболевания, возможно, нивелируют значимые различия по отдельным показателям между носителями разных групп крови. Отражением

дисфункции эндотелия, развивающейся на фоне новой коронавирусной инфекции, является повышение показателей, характеризующих содержание и активность vWF, что может уменьшать степень исходных отличий, обусловленных групповой принадлежностью крови. По остальным исследованным параметрам значимых различий между пациентами обследованных групп получено не было. Несмотря на менее выраженные различия гемостатических показателей между пациентами, принадлежащими к группе O(I) или имеющих отличную от O(I) группу крови, у лиц, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, также как и при легком течении заболевания, носительство первой группы крови ассоциируется с наличием более низкого гемостатического потенциала.

Таким образом, исследование плазменного звена гемостаза позволило выявить взаимосвязь между групповой принадлежностью крови и степенью активации системы свертывания крови у заболевших COVID-19: наличие первой группы крови ассоциировалось с меньшей степенью активации системы свертывания крови, что, вероятно, может иметь протективное значение для развития ВТЭО при новой коронавирусной инфекции.

ГЛАВА 6. АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

6.1 Алгоритм исследования системы гемостаза в остром периоде заболевания

Данные, полученные в результате комплексного исследования системы гемостаза, свидетельствуют не только о наличии протромботических изменений, но и о связи гемостатических изменений с течением и исходом заболевания, а также о влиянии на них антикоагулянтных препаратов. В связи с этим с целью улучшения маршрутизации пациентов, госпитализированных с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19, а также оптимизации антитромботической терапии во время пребывания больных в стационаре предложен алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза, представленный на Рисунке 16. Для данного алгоритма отобраны лабораторные методы, показавшие свою прогностическую значимость и высокую информативность.

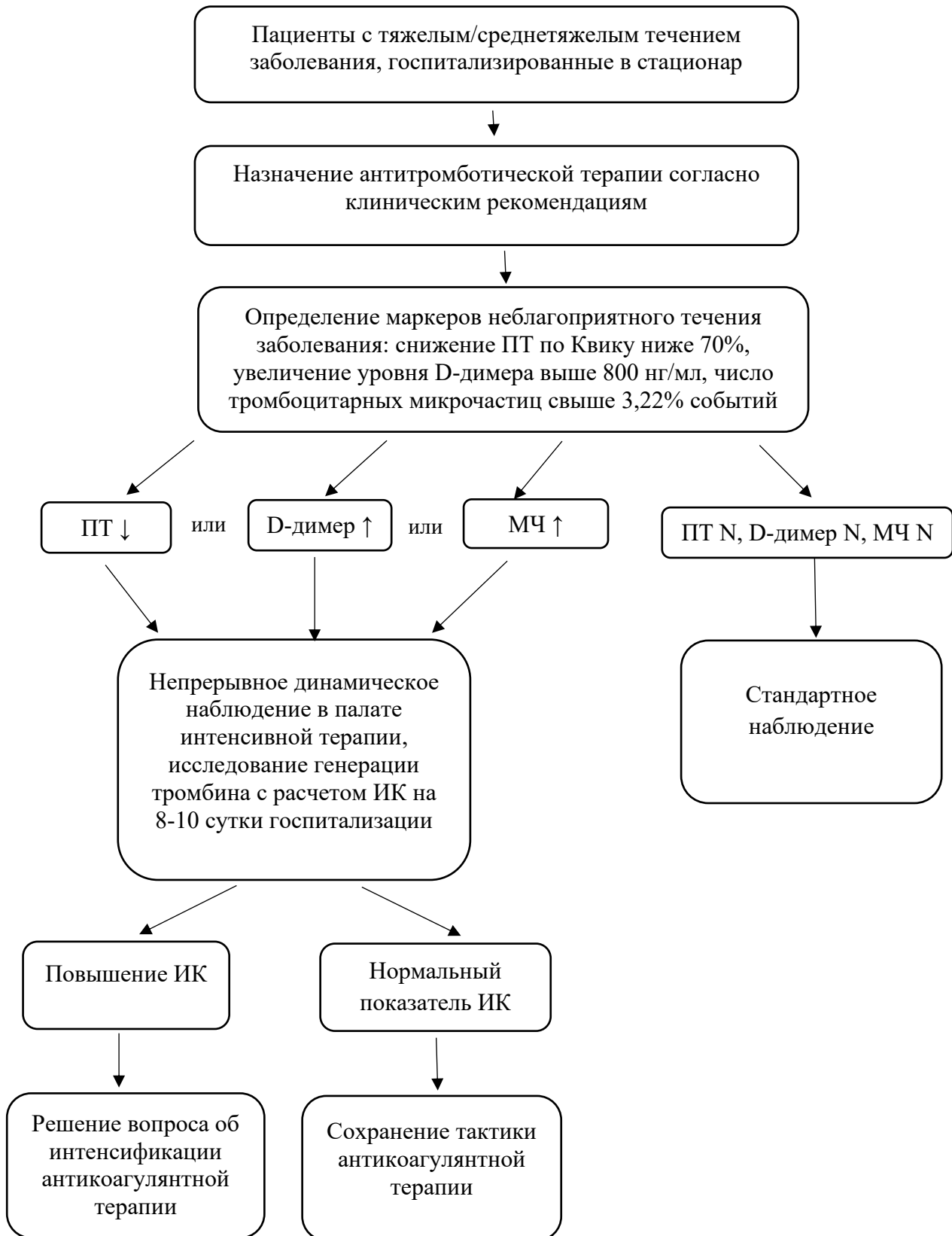


Рисунок 16 – Алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза в остром периоде COVID-19

Данный алгоритм включает в себя комплексное использование отдельных параметров, имеющих прогностическую значимость, для выделения группы риска с высокой вероятностью неблагоприятного течения/исхода заболевания, а также использование интегрального метода оценки системы гемостаза, ТГТ с расчетом ИК, для оценки эффективности антикоагулянтных препаратов у данных пациентов. Использование алгоритма, наряду с общепринятыми клинико-лабораторными методами, может служить дополнительным критерием для принятия решения об изменении тактики антитромботической терапии у пациентов с тяжелым течением заболевания и высоким риском развития осложнений или летального исхода заболевания.

6.2 Алгоритм исследования системы гемостаза после перенесенного COVID-19

У пациентов, перенесших заболевание в тяжелой и среднетяжелой форме, актуальным вопросом является пролонгация профилактики тромбозов, проводимой в стационаре или ее старт на амбулаторном этапе на фоне наличия рисков ВТЭО. В спорных клинических ситуациях может быть полезно использование ТГТ для оптимизации назначения антитромботической терапии. Алгоритм лабораторного обследования представлен на Рисунке 17.

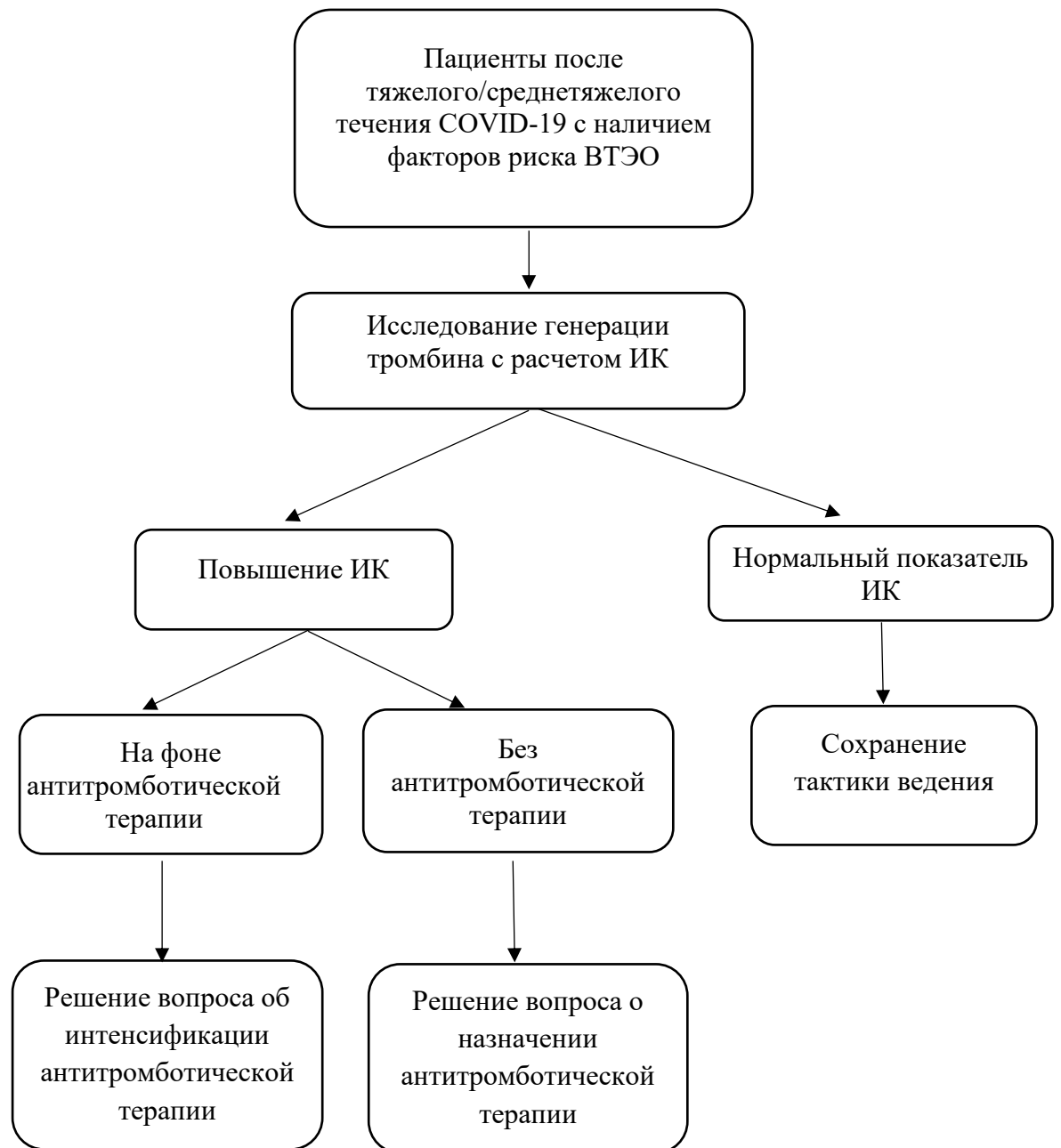


Рисунок 17 – Алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза после перенесенного COVID-19

В представленном алгоритме предлагается оценка системы гемостаза на основании определения параметров генерации тромбина и расчета на их основе ИК, отражающего совокупное взаимодействие про- и антикоагулянтов, а также действие на гемостатический потенциал антикоагулянтных препаратов. Повышение ИК может быть дополнительным критерием, свидетельствующим о

наличии прокоагулянтных изменений и/или не достаточной эффективности применяемых препаратов у пациентов, перенёсших коронавирусную инфекцию. Использование данного алгоритма может быть полезным для оптимизации антитромботической терапии и снижения частоты развития осложнений после перенесенного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, была обнаружена впервые в г. Ухань в 2019 г. и вскоре, ввиду высокой контагиозности, приобрела характер пандемии, став глобальной проблемой здравоохранения во всем мире. Несмотря на окончание пандемии и переход COVID-19 в категорию сезонных заболеваний, достаточно высокой остается как сама заболеваемость, так и встречаемость тяжелого течения новой коронавирусной инфекции. Также продолжают появляться новые штаммы вируса, способствующие дальнейшему распространению заболевания. Течение COVID-19 ассоциировано с развитием так называемого «цитокинового шторма», когда гиперпродукция цитокинов приводит к увеличению проницаемости сосудистой стенки, нарушению регуляции сосудистого тонуса, повышению адгезии лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелию. Развивающееся генерализованное повреждение эндотелия, который теряет свои атромбогенные свойства, экспрессия тканевого фактора, активация различных клеток крови, отделение от них МЧ и снижение фибринолитической активности являются причиной гиперкоагуляционных изменений, сопровождающихся тромбообразованием в микроциркуляторном русле [38; 39; 151; 189]. Одним из тяжелых осложнений COVID-19, ведущим к увеличению летальности, является развитие тромботических осложнений артериального и венозного русла, среди которых лидируют ВТЭО, достигающие 18% у лиц с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии [108]. Острая артериальная непроходимость, согласно различным литературным данным, встречается у 0,39% – 11,1% пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции. По данным большинства исследований основными факторами риска развития артериальной непроходимости на фоне COVID-19 являются мужской пол, пожилой возраст и наличие сопутствующей сердечно-сосудистой патологии. Несмотря на то, что у пациентов с COVID-19 частота венозных тромботических осложнений значительно выше по сравнению с

артериальными, артериальные тромбозы связаны с более высоким уровнем смертности, в сравнении с ВТЭО [3; 47].

С 2020 г. активно стал использоваться термин «длительный COVID» для описания различных симптомов, сохраняющихся либо проявляющихся через несколько недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2 независимо от вирусного статуса [92]. Постковидный синдром на сегодняшний день является самостоятельным диагнозом и включен в Международную классификацию болезней МКБ-10 с шифром U09.9 — состояние после COVID-19 [187]. Продолжаться такое состояние может шесть, двенадцать месяцев, а у части наблюдаемых и больше года. Соответственно, у пациентов, перенесших COVID-19, эндотелиальная дисфункция, клеточная активация и гиперкоагуляционные изменения, обуславливающие повышенный риск тромботических осложнений, также могут сохраняться в течение некоторого времени после выздоровления.

С целью коррекции нарушений системы гемостаза и профилактики ВТЭО широкое распространение приобрело назначение антикоагулянтных препаратов как на фоне острого течения заболевания, так и в период реконвалесценции [7]. В стационарных условиях предпочтение отдается препаратам гепарина, обладающим помимо антикоагулянтного, также и противовоспалительным эффектом, а в амбулаторных – ПОАК в профилактических дозировках. Назначение же антикоагулянтных препаратов в сочетании с антиагрегантами является предпочтительным методом лечения пациентов с артериальным тромбозом на фоне коронавирусной инфекции.

При стандартном исследовании системы гемостаза, проводимом в большинстве учреждений здравоохранения, характерным для больных COVID-19 является повышение показателей концентрации фибриногена и уровня D-димера, свидетельствующие как об активности воспалительного процесса, так и о развитии прокоагулянтных изменений. Отклонения других скрининговых тестов коагулограммы не являются информативными для выявления гиперкоагуляции. Однако, особенно на фоне терапии, могут определяться также низкие значения ПТ по Квику, концентрации ФГ, количества тромбоцитов, что в итоге указывает на

наличие разнонаправленных изменений и не дает возможности сделать однозначный вывод о состоянии системы гемостаза. Целью настоящего исследования являлось проведение комплексной оценки состояния системы гемостаза, позволяющее прогнозировать развитие гиперкоагуляции, определяющее высокий риск тромботических осложнений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией как в остром периоде COVID-19, так и после перенесенного заболевания. Оценка прокоагулянтных изменений у данных пациентов представляется крайне важной для оптимизации назначения антитромботической терапии. Выбор наиболее информативных лабораторных методов контроля эффективности и безопасности применяемых препаратов является важным аспектом успешной профилактики и лечения тромботических осложнений.

В проведенное исследование было включено 279 человек, в том числе 163 больных с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19 в остром периоде заболевания и 116 человек, перенесших коронавирусную инфекцию различной степени тяжести. Часть обследованных пациентов получала антитромботическую терапию. В исследовании анализировали различные параметры, отражающие состояние коагуляционного гемостаза и системы естественных антикоагулянтов, оценивали особенности тромбоцитарного звена гемостаза, функции эндотелия, исследовали характеристики и прокоагулянтную активность МЧ плазмы крови, а также отдельные параметры клеточного и гуморального иммунитета.

У пациентов в остром периоде заболевания отсутствовала возможность выполнения некоторых исследований из-за определенных методологических особенностей пробоподготовки, ввиду этого в основном была проведена оценка состояния только плазменного звена гемостаза. Для этого определяли показатели скрининговой коагулограммы, активности некоторых коагуляционных факторов и естественных антикоагулянтов, а также параметры генерации тромбина. Также определяли характеристики МЧ плазмы крови и уровень ГЦ. Анализ коагуляционных параметров больных COVID-19 на фоне острого течения коронавирусной инфекции в сравнении со здоровыми лицами установил сдвиг

гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции, что выражалось в снижении индекса АПТВ, повышении активности FVIII, активности и антигена vWF, увеличении концентрации D-димера. Исследователи описывают наличие у данных пациентов коагулопатии, характеризующейся именно развитием прокоагулянтных изменений. Широко известно, что данные изменения гемостаза в остром периоде новой коронавирусной инфекции являются важным патогенетическим механизмом развития как самого заболевания, так и различных тромботических осложнений [16; 39; 189]. Повышение активности и уровня vWF является, с одной стороны, маркером гиперкоагуляционных изменений, а с другой стороны свидетельствует о выраженных изменениях эндотелия сосудов и развитии эндотелиальной дисфункции. Вследствие потери эндотелием его атромбогенных свойств происходит активация как клеточного, так и коагуляционного звеньев гемостаза, что приводит к запуску процесса тромбообразования [8; 9; 20; 72]. Наше исследование также показало, что чрезмерное повышение активности vWF, которое было обнаружено у лиц с летальным исходом, может служить маркером неблагоприятного исхода заболевания у пациентов с острым течением новой коронавирусной инфекции. Также о наличии изменений эндотелиальной выстилки свидетельствовало и повышение в группе пациентов концентрации ГЦ. С одной стороны, в течение многих лет наличие гипергомоцистеинемии оценивали как фактор риска развития тромботических событий, в первую очередь в артериальном русле, за счет негативного воздействия на систему гемостаза, в частности активации тромбоцитов, выраженного прооксидантного действия и угнетения тромбомодулина. С другой стороны, в последние годы произошел пересмотр значимости данного показателя, гипергомоцистеинемия на данный момент не относится к тромбофилии и ее роль в развитии тромботических осложнений дискуссионна [19]. В настоящее время многие исследователи считают повышение уровня ГЦ в большей степени косвенным маркером эндотелиальной дисфункции, а не маркером тромбофилии, однако не отрицается и негативное влияние высоких концентраций ГЦ на сосудистую стенку [8; 10]. Повышение концентрации D-димера у пациентов с острым течением COVID-19 является наиболее часто

встречаемым патологическим лабораторным показателем. Его отмечают многочисленные исследователи и рассматривают данный показатель не только как маркер активации системы гемостаза и воспалительного ответа, но и, при его значительном повышении, как важный предиктор развития тромботических осложнений и неблагоприятного исхода заболевания. Проведенное нами исследование установило повышение уровня D-димера практически у всех пациентов с острым течением COVID-19, а также взаимосвязь степени повышения данного показателя и летального исхода заболевания, что согласуется с литературными данными [34; 77; 102]. Согласно нашим результатам, медиана уровня D-димера была в 4,3 раза выше в группе больных с неблагоприятным исходом заболевания в сравнении с выжившими пациентами. Практически все исследованные параметры коагулограммы указывали на наличие прокоагулянтных изменений на фоне острого течения новой коронавирусной инфекции. Единственным показателем, не свидетельствующим о сдвиге гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции, являлся ПТ по Квику, который был не только значимо меньше у больных COVID-19, но и, при значительном снижении, имел взаимосвязь с развитием неблагоприятного исхода заболевания. Снижение ПТ по Квику у пациентов с новой коронавирусной инфекцией может быть обусловлено как потреблением факторов свертывания крови в процессе тромбообразования в микроциркуляторном русле, так и особенностями белково-синтетической функции печени на фоне острого инфекционного процесса и дисфункции органов и систем на фоне тяжести состояния [62].

Менее выраженные, однако значимые изменения также затрагивали и систему естественных антикоагулянтов обследованных пациентов. Одним из признаков прокоагулянтных изменений было снижение, в сравнении с контрольной группой, уровня свободного PS, кофактора PC, свидетельствующее о нарушении работы антикоагулянтной системы протеина С. Активность самого протеина С хотя и оставалась в нормальных пределах, но имела тенденцию к снижению в группе пациентов в сравнении со здоровыми лицами. При развитии острого воспалительного ответа и активации системы комплемента происходит связывание

свободного PS, который в таком состоянии теряет свою кофакторную активность для PC, что объясняет выявленные изменения [187]. Снижение эффективности работы системы протеина C ранее описано исследователями при других инфекционных заболеваниях [17; 125]. Данная антикоагулянтная система играет активную роль в модуляции тяжелых системных воспалительных процессов, таких как сепсис, травма и ОРДС, благодаря своим как антикоагулянтным, так противовоспалительным свойствам, и нарушение ее работы является важным патогенетическим механизмом развития тромботических осложнений на фоне инфекционных заболеваний [179]. Активность АТ, одного из важнейших антикоагулянтов, ингибирующих как сам тромбин, так и активные формы различных факторов свертывания крови, в целом в группе больных COVID-19 оставалась в пределах нормальных значений. Однако у пациентов с летальным исходом заболевания данный параметр был значимо ниже показателей как группы контроля, так и выживших лиц, что позволяет также рассматривать снижение активности АТ как маркер неблагоприятного исхода новой коронавирусной инфекции.

Для исследования состояния системы гемостаза большой интерес представляет общий гемостатический потенциал с учетом взаимодействия про- и антикоагулянтов, который в данном исследовании оценивали у пациентов с COVID-19 на основании параметров ТГТ. Полученные результаты, так же, как и показатели коагулограммы, в первую очередь, указывали на смещение гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции, что характеризовалось увеличением количественных параметров ТГТ. У больных COVID-19 отмечалось повышение ЭТП, при этом более значимые различия данного показателя с параметрами контрольной группы, а также повышение максимальной концентрации тромбина, были отмечены при добавлении ТМ, позволяющего учитывать вклад системы протеина C в генерацию тромбина. Данные изменения сопровождалось резким снижением ЧТМ, что свидетельствует как о значительном снижении эффективности антикоагулянтной системы протеина C, так и о патологическом состоянии эндотелия. Угнетение системы естественных

антикоагулянтов на фоне активации прокоагулянтного звена гемостаза и выраженной эндотелиальной дисфункции может быть одним из основных патогенетических механизмов развития протромботического состояния у пациентов с новой коронавирусной инфекцией. По полученным показателям ТГТ был произведен расчет ИК, позволяющий упростить интерпретацию результатов данного исследования, который также показал наличие гиперкоагуляционных изменений у больных COVID-19 с высокой степенью достоверности. ИК был выше в 4,6 раза в группе пациентов в сравнении с контрольной группой. Полученные результаты позволяют отнести ИК к чувствительным показателям оценки активации системы гемостаза у пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции.

Помимо взаимосвязи различных параметров плазменного гемостаза с исходом заболевания, мы оценивали также и наличие корреляции с течением новой коронавирусной инфекции. Балльную оценку тяжести состояния пациентов проводили по шкале раннего прогнозирования NEWS. Нами была установлена прямая значимая корреляция между количеством баллов, рассчитанных по данной шкале, и уровнями D-димера и vWF. Наличие данных корреляционных связей показателей гемостаза с результатами шкалы раннего прогнозирования, характеризующими течение заболевания, подтверждает то, что состояние системы гемостаза играет важную роль как в патогенезе новой коронавирусной инфекции, так и в развитии критических осложнений. Так, повышение уровня D-димера, vWF и снижение ПТ по Квику могут быть маркерами как неблагоприятного течения, так и исхода коронавирусной инфекции.

С учётом большой роли изменений системы гемостаза в патогенезе COVID-19 и высокой частоты тромботических осложнений, назначение антикоагулянтных препаратов входит в стандарт терапии госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией и регламентировано действующими клиническими рекомендациями [14]. Антитромботическая терапия позволяет улучшить исходы заболевания, снизить летальность и инвалидизацию пациентов с новой коронавирусной инфекцией, в связи с чем ее своевременное назначение и

эффективность критически важны для больных COVID-19 [2; 56; 57; 67]. Всем обследованным нами пациентам в остром периоде заболевания при госпитализации в стационар были назначены препараты НМГ. В рамках данного исследования для оценки эффективности их применения у группы пациентов из 56 человек проводили динамический мониторинг показателей системы гемостаза в момент поступления и до назначения антикоагулянтных препаратов, затем на 3 – 5 и 8 – 10 сутки пребывания в стационаре уже на фоне применения НМГ. До назначения антикоагулянтных препаратов у пациентов отмечались значительные прокоагулянтные изменения, как и в целом по группе, выражающиеся в повышении отдельных маркеров гиперкоагуляции и снижении уровня протеина S. Данные изменения плазменного гемостаза сохранялись без значимых отклонений и на 3 – 5 сутки получения НМГ. На 8 – 10 сутки лечения в стационаре и приема антикоагулянтных препаратов отмечались некоторые отклонения коагуляционных параметров. Достоверное снижение, в сравнении с исходными показателями, обнаружено только для уровня D-димера, который, однако, оставался выше референтных значений. Приведенные данные свидетельствуют о сохранности прокоагулянтных изменений на фоне проводимой терапии и лишь о некотором снижении степени гиперкоагуляции и активности воспалительного процесса и при этом не отражают эффективность антитромботической терапии. Показатели генерации тромбина в данной группе больных оказались более информативными для оценки влияния антикоагулянтных препаратов на плазменный гемостаз. Так, при обследовании на 3 – 5 сутки было отмечено достоверное снижение ИК и тенденция к более низким значениям ЭТП, что свидетельствовало об уменьшении степени гиперкоагуляции на фоне проводимой терапии. На 8 – 10 сутки отмечалось еще более выраженное снижение генерации тромбина в сравнении с исходными значениями. Так, отмечалось выраженное падение ЭТП, который даже достигал нормальных значений, увеличение ЧТМ и значительное снижение ИК в сравнении с результатами, полученными при исследовании до назначения НМГ. Последние два показателя хотя и достоверно отличались от нормальных значений, демонстрировали уверенную тенденцию к восстановлению и значимо отличались

от первоначальных показателей. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о преимуществе ТГТ в сравнении с отдельными показателями плазменного гемостаза в оценке эффективности антикоагулянтной терапии на фоне острого течения коронавирусной инфекции.

Оценка тромбоцитарного звена гемостаза в нашем исследовании была ограничена в связи с особенностями пробоподготовки и транспортировки образцов плазмы крови пациентов, находящихся в отделении интенсивной терапии. Ввиду этого не представлялось возможным проведение исследования функциональной активности тромбоцитов методом оптической агрегатометрии, а также коагуляционной активности МЧ с помощью ТГТ. В данной группе пациентов в первую очередь оценивали количество тромбоцитов. У 25% пациентов с острым течением COVID-19, включенных в исследование, отмечалось снижение количества тромбоцитов, что, как известно, может служить причиной геморрагических осложнений и утяжелять течение заболевания. Однако в обследованной группе практически не были отмечены подобные осложнения. У пациентов с наличием тромбоцитопении, наоборот, были выявлены значимые прокоагулянтные изменения системы гемостаза. Так, имело место более выраженное, чем у лиц с нормальным числом тромбоцитов, повышение активности и содержания vWF, а также уровня D-димера. Из гипокоагуляционных изменений, как и в целом по группе, отмечалось только снижение ПТ по Квику, однако оно было более значимое, чем у пациентов без тромбоцитопении. Снижение количества тромбоцитов на фоне повышения активности vWF может свидетельствовать о том, что связь между ними может быть одной из возможных причин повышенного потребления тромбоцитов и развития тромбоцитопении. Избыточное связывание тромбоцитов с vWF, вероятно, обусловлено наличием большого числа высокомолекулярных мультимеров vWF на фоне дефицита фермента ADAMTS-13, характерного для острого периода коронавирусной инфекции и описанного другими исследователями [127; 193]. Увеличение уровня D-димера, обнаруженное у пациентов с низким числом тромбоцитов, который у ряда больных этой группы оказался аномально высоким, указывает на чрезмерную

активацию системы гемостаза. Данная особенность больных COVID-19 отмечается в различных исследованиях и рассматривается как важный предиктор неблагоприятного исхода заболевания [96]. Снижение ПТ по Квику у пациентов с тромбоцитопенией может быть результатом потребления факторов свёртывания крови в процессе внутрисосудистой коагуляции. Учитывая, что одной из причин развития тромбоцитопении предполагают их участие в процессе тромбообразования в сосудах микроциркуляторного русла, снижение ПТ по Квику у данных больных представляется логичным. Нельзя исключить и нарушение белково-синтетической функции печени на фоне инфекционного процесса. Однако для однозначного вывода необходимы дальнейшие исследования. Наше исследование показало наличие взаимосвязи тромбоцитопении как с развитием тромботических осложнений, так и с летальным исходом заболевания. Таким образом, наличие снижения количества тромбоцитов у пациентов в остром периоде COVID-19 может быть неблагоприятным прогностическим признаком течения и исхода заболевания.

Косвенно о состоянии тромбоцитарного звена гемостаза можно судить по количеству тромбоцитарных МЧ, которые отделяются в процессе активации и апоптоза клеток. В исследованной группе пациентов с острым течением коронавирусной инфекции мы оценивали МЧ плазмы крови различного происхождения методом проточной цитометрии. МЧ играют важную роль в процессе гемостаза и тромбоза, в первую очередь за счет локализованных на их поверхности отрицательно заряженных ФЛ, служащих местом сборки прокоагулянтных комплексов, и ТФ, инициирующего процесс генерации тромбина. Также наличие на поверхности МЧ многочисленных антигенных детерминант делает их активными участниками различных патофизиологических процессов. Некоторыми исследователями было описано повышение количества МЧ у пациентов с тяжелым течением коронавирусной инфекции, что рассматривалось как маркер активации системы гемостаза [38]. В нашем исследовании также было обнаружено значительное увеличение количества МЧ тромбоцитарного происхождения у пациентов в острой стадии COVID-19, в десятки раз

превышающее число МЧ здоровых лиц. При этом наблюдалось наличие достоверно большего количества тромбоцитарных МЧ у лиц с летальным исходом заболевания в сравнении с выжившими пациентами. Значимых различий между пациентами и контрольной группой относительно количества лейкоцитарных и эндотелиальных МЧ выявлено не было. Отсутствие достоверных различий между больными COVID-19 в острой фазе заболевания и здоровыми лицами в количестве МЧ другого происхождения, вероятно, обусловлено их малым объемом в общей популяции МЧ в целом, а также выбранными для детекции антигенными детерминантами. В дальнейших исследованиях, вероятно, требуется использование моноклональных антител к нескольким кластерам дифференцировки для детекции МЧ, циркулирующих в небольшом количестве. Значительное повышение циркулирующих МЧ тромбоцитарного происхождения в остром периоде коронавирусной инфекции может быть признаком как чрезмерной активации системы гемостаза, так и маркером неблагоприятного исхода заболевания.

У лиц, перенесших коронавирусную инфекцию различной степени тяжести, оценку плазменного гемостаза проводили на основании тех же параметров, что и у больных в остром периоде COVID-19. Для обследованных пациентов были характерны прокоагулянтные изменения плазменного гемостаза, характеризующиеся повышением отдельных коагуляционных показателей, таких как концентрация ФГ, активность FVIII и vWF, а также эндотелиальная дисфункция, проявляющаяся увеличением уровня vWF и снижением эффективности работы антикоагулянтной системы протеина С. Это согласуется с литературными данными о существовании постковидного синдрома и сохраняющихся после перенесенного заболевания в течение длительного времени изменений различных органов и систем [88; 90; 158; 174]. Более значимые изменения показателей были нами выявлены у переболевших в тяжёлой и среднетяжёлой форме. Полученные результаты свидетельствуют о более выраженной эндотелиальной дисфункции и реактивных воспалительных изменениях у пациентов после среднетяжелого и тяжелого течения COVID-19, чем

у перенесших легкую форму заболевания. Данные результаты представляются логичными, так как при обследовании пациентов в остром периоде у лиц с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания были получены данные, свидетельствующие о чрезмерной активации системы гемостаза и выраженной эндотелиальной дисфункции. На фоне сохранения прокоагулянтных изменений после перенесенного заболевания имела место некоторая активация и эндогенных антикоагулянтов, возможно, носящая компенсаторный характер. Так, у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания отмечалось повышение активности протеина С, а у лиц с легким – активности АТ, что может иметь протективное значение для возникновения ВТЭО в период реконвалесценции. Несмотря на прокоагулянтные изменения гемостаза, у пациентов с легким течением COVID-19 не встречались тромботические осложнения, что, вероятно, связано с более молодым возрастом и отсутствием значимой соматической патологии у представителей данной группы. Тяжелые и среднетяжелые формы заболевания сопровождались выраженной воспалительной реакцией, что может быть одним из ведущих факторов тяжёлого течения болезни. Реализация тромботических осложнений у данных пациентов в первую очередь ассоциирована с тяжестью течения заболевания, которая обусловлена степенью эндотелиальной дисфункции и воспалительных реакций, возрастом и наличием сопутствующей патологии. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями выявлены наиболее высокие значения уровня D-димера, важного прогностического маркера тяжести течения новой коронавирусной инфекции, что может говорить о повышенном риске развития осложнений у данной категории больных после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Для интегральной оценки системы гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19, также, как и больных в остром периоде заболевания, использовали ТГТ. Значимых изменений количественных параметров ТГТ у обследованных пациентов выявлено не было. Однако в обеих группах пациентов, независимо от тяжести течения заболевания, в сравнении с контролем, было выявлено снижение ЧТМ, которое указывает на низкий антикоагулянтный потенциал, что считается

общепризнанным фактором риска развития тромботических осложнений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что после перенесенного заболевания изменения коагуляционного гемостаза связаны в первую очередь именно с дисбалансом про- и антикоагулянтных звеньев системы свертывания крови. Значимых различий в целом между двумя группами по ЧТМ не было выявлено, что может быть связано с влиянием антикоагулянтных препаратов, которые назначались пациентам с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания как на фоне острого периода, так и после перенесенной новой коронавирусной инфекции. Значения ИК, рассчитанного по показателям ТГТ, также подтвердили наличие сдвига гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции в обеих группах пациентов независимо от тяжести перенесённой инфекции.

Так как у части обследованных пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания имели место тромботические осложнения, мы проанализировали показатели плазменного гемостаза в зависимости от тромботического анамнеза. Значимых различий между пациентами с тромбозами и без наличия таковых по коагуляционным параметрам и показателям ТГТ получено не было. Отсутствие более выраженной активации системы гемостаза у пациентов, перенесших ВТЭО на фоне коронавирусной инфекции, может быть обусловлено проводимой антитромботической терапией. Данная группа пациентов получала ПОАК в лечебной дозе, тогда как больные без тромботических осложнений – в профилактической. Единственным показателем, который отличался у пациентов в зависимости от тромботического анамнеза, был уровень свободного PS. Его повышение отмечалось только у тех больных, у которых не было тромботических осложнений. Данная особенность даёт основание предполагать протективное влияние протеина S в развитии ВТЭО.

С целью оценки проводимой антитромботической терапии анализ коагуляционных параметров и активности естественных антикоагулянтов был проведен в зависимости от приема ПОАК пациентами на момент обследования. При этом между группами пациентов независимо от наличия или отсутствия

приема антикоагулянтов не было отмечено каких-либо значимых различий, позволяющих сделать вывод об эффективности применяемых препаратов. В обеих группах отмечалось повышение маркеров гиперкоагуляции и эндотелиальной дисфункции, таких как активность FVIII, активность и содержание vWF, уровень D-димера, а также нормальная активность и уровень естественных антикоагулянтов. Интегральная оценка плазменного гемостаза по показателям ТГТ показала закономерное снижение количественных показателей генерации тромбина у пациентов на фоне приема антикоагулянтных препаратов, при этом сохранялось некоторое снижение ЧТМ, однако значительно менее выраженное, чем у лиц, не получающих ПОАК, что свидетельствовало о частичном восстановлении работы системы протеина С на фоне назначения антикоагулянтов. В ранее проведенных исследованиях у пациентов с тромботическими событиями и получающими ПОАК, было показано, что прием данных препаратов может улучшать эффективность работы системы протеина С [26]. Эти данные, как и полученные нами результаты, свидетельствуют о том, что ПОАК могут быть препаратами выбора для профилактики ВТЭО у пациентов с инфекционными заболеваниями, так как у них наблюдается угнетение работы системы протеина С, что может быть одной из ведущих причин развития тромботических осложнений [55; 172]. Проведенное исследование подтверждает, что использование ПОАК у пациентов, перенёвших новую коронавирусную инфекцию, ассоциировано с повышением эффективности работы антикоагулянтной системы протеина С, что может быть одним из ключевых моментов успеха профилактики ВТЭО у данных лиц. Из всех коагуляционных параметров ИК оказался наиболее чувствительным показателем при оценке гемостатического потенциала на фоне приема антикоагулянтных препаратов. Так, показатель ИК пациентов, принимавших ПОАК, был достоверно ниже значений больных, не получавших данные препараты, и не отличался от показателей здоровых лиц, свидетельствуя о сохранности гемостатического баланса на фоне проводимой терапии. Таким образом, можно констатировать, что определение ИК по параметрам ТГТ позволяет осуществлять персонализированный подход к оценке состояния

системы гемостаза и мониторингу антикоагулянтной терапии у пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

В связи с тем, что срок после перенесенного COVID-19 у обследованных нами пациентов различался, был проведен анализ параметров плазменного гемостаза в зависимости от времени, прошедшего после заболевания. Однако значимой положительной динамики данных показателей или их нормализации обнаружено не было в срок до шести месяцев после перенесенной новой коронавирусной инфекции, что согласуется с литературными данными, указывающими на наличие постковидного синдрома и длительное сохранение нарушений иммунной системы и, вероятно, изменений эндотелиальной стенки, способствующих прокоагулянтным изменениям системы гемостаза. У пациентов, обследованных через три месяца после перенесенного заболевания, отмечалась тенденция к повышению генерации тромбина в сравнении с лицами, обследованными через месяц, что, вероятно, обусловлено окончанием приема антикоагулянтных препаратов основной массой пациентов. Полученные результаты свидетельствуют о сохранении прокоагулянтных изменений и после перенесенного заболевания, что может быть сопряжено с повышенным риском развития ВТЭО, особенно при наличии дополнительных факторов риска. Другие исследователи в своих работах также отмечали вероятность развития тромботических осложнений у пациентов как в период реконвалесценции, так и в более отдаленный от заболевания временной промежуток [5; 53; 175]. Сохраняющиеся после острого периода заболевания протромботические изменения могут быть основанием для назначения антикоагулянтных препаратов или пролонгации профилактики после выздоровления у пациентов из группы риска развития ВТЭО.

Состояние плазменного звена системы свертывания крови является критически важным для процессов гемостаза и тромбоза, однако не меньшее значение имеет и статус тромбоцитов. Как известно, помимо того, что тромбоциты сами формируют тромб, именно на их поверхности происходит сборка коагуляционных комплексов и формирование тромбина, ключевого фермента

гемостаза, который обладает множеством механизмов как усиления, так и ограничения тромбообразования [7; 21; 36]. Для данного процесса большое значение имеет не только количество тромбоцитов, но и их качественные характеристики. У обследованных нами пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции, вне зависимости от степени тяжести заболевания, не было отмечено отклонений количества тромбоцитов в виде тромбоцитопении или тромбоцитоза. Однако оценка агрегационной способности тромбоцитов при помощи оптической агрегатометрии выявила повышение их функциональной активности. Полученные результаты представляются закономерными. Другими авторами ранее также было описано повышение активации тромбоцитов у пациентов на фоне острого течения заболевания [169]. Кроме того, в нашем исследовании было выявлено значительное повышение концентрации тромбоцитарных МЧ у госпитализированных пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания, которое свидетельствует об увеличении активности тромбоцитов и, вероятно, может сохраняться после перенесенного COVID-19. Данные изменения функциональной активности тромбоцитов имели отношение только к той группе пациентов, которая не получала препаратов с антиагрегантным действием. У лиц, получающих ацетилсалициловую кислоту, было отмечено снижение агрегации тромбоцитов, наиболее выраженное при использовании в качестве индуктора коллагена, что является закономерным и отражает эффект воздействия данных антитромбоцитарных препаратов. Таким образом, исследование агрегации тромбоцитов позволяет не только оценивать фоновое состояние тромбоцитарного звена гемостаза, но и контролировать приём препаратов с антитромбоцитарным действием. Выявленное повышение активности тромбоцитов у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию, может быть основанием для назначения им антиагрегантных препаратов, в частности при наличии факторов риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Полученные нами результаты свидетельствуют о перспективности приема антитромбоцитарных препаратов у данных пациентов для профилактики осложнений.

О степени клеточной активации не только тромбоцитов, но и других клеток крови, говорит число и свойства МЧ плазмы крови. В данной группе пациентов, перенесших заболевание, мы определяли не только количество и происхождение МЧ на проточном цитофлуориметре, но и коагуляционную активность МЧ с помощью ТГТ. Анализ результатов, полученных при проведении проточной цитометрии, показал значительное повышение количества МЧ тромбоцитарного происхождения у пациентов, перенесших COVID-19 как в среднетяжелой и тяжелой форме, так и в легкой, в сравнении со здоровыми лицами. Достоверных различий между пациентами с различной тяжестью заболевания получено не было, однако отмечалась тенденция к снижению количества МЧ у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением в сравнении с легким. Рядом авторов было отмечено увеличение числа МЧ, в частности тромбоцитарного происхождения, у пациентов в остром периоде коронавирусной инфекции и отмечено их значение в качестве биологического маркера активации системы гемостаза, сходные результаты были получены и в данном исследовании [38]. Повышенная циркуляция МЧ тромбоцитарного происхождения сохраняется до четырех месяцев после перенесенного заболевания, о чем свидетельствуют полученные нами результаты. Стоит отметить, что не было выявлено значимого увеличения количества МЧ не тромбоцитарного происхождения у пациентов после коронавирусной инфекции, независимо от степени тяжести перенесенного заболевания. Вероятно, как и в исследовании МЧ у пациентов в остром периоде COVID-19, это обусловлено малым количеством эндотелиальных и лейкоцитарных МЧ в общем пуле МЧ, а также выбранным для их детекции спектром флуоресцентных антител.

Анализ коагуляционной активности МЧ у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, показал достоверные отличия параметров ТГТ в сравнении с контрольной группой, значительно более выраженные у лиц с легким течением заболевания. Так, у пациентов, перенесших лёгкую форму COVID-19, было выявлено повышение генерации тромбина как при использовании «PRP-Reagent», содержащего в качестве триггера ТФ и позволяющего оценивать вклад в гемостатический процесс отрицательно заряженных прокагулянтных

фосфолипидов, так и «MP-Reagent», содержащего отрицательно заряженные фосфолипиды и позволяющего оценить участие в процессе образования тромбина ТФ, экспрессированного на поверхности МЧ. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что ТФ, локализованный на наружной мембране МЧ, оказывает большее влияние на увеличение генерации тромбина, чем отрицательно заряженные фосфолипиды, вероятно, за счет усиления его образования на этапе инициации. Данная особенность является критически важной для процессов гемостаза и тромбоза, так как именно стартовое количество тромбина, образованное на данном этапе, обуславливает активацию тромбоцитов, предоставляющих свою поверхность для генерации большого количества тромбина и запуск коагуляционного каскада [22; 23]. У пациентов, перенесших заболевание в среднетяжелой и тяжелой форме, было выявлено лишь повышение скорости генерации тромбина и тенденция к увеличению ее количественных параметров при использовании обоих реагентов, позволяющих оценить как вклад ТФ, так и отрицательно заряженных фосфолипидов, локализованных на поверхности МЧ. Таким образом, результаты, полученные при оценке характеристик МЧ, свидетельствуют о наличии значимой клеточной активации, сопровождающейся образованием МЧ у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, независимо от степени тяжести заболевания. Однако только у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, отмечалось значительное повышение показателей, характеризующих участие МЧ в генерации тромбина и соответственно в повышении протромботического потенциала. Также именно в данной группе пациентов при оценке корреляционных связей, была выявлена связь коагуляционной активности МЧ с количеством МЧ тромбоцитарного происхождения. У пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания подобные отклонения выявлены не были, что, вероятно, свидетельствует о протективном значении в ограничении генерации тромбина, зависимой от МЧ плазмы крови, антикоагулянтных препаратов, которые назначались всем обследованным пациентам этой группы после перенесенного заболевания.

При оценке особенностей функционального состояния иммунной системы показано, что в постковидном периоде длительно сохраняются иммунологические нарушения, особенно при тяжелом и среднетяжелом течении заболевания, характеризующиеся повышением содержания Т-регуляторных клеток, лимфоцитов с маркерами поздней активации, среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов при сниженном содержании иммуноглобулина А в сыворотке. Выявлена связь снижения местных защитных иммунных реакций, гиперактивации клеточного иммунитета как с напряжением прокоагулянтного звена гемостаза, так и компенсаторной реакцией со стороны системы антикоагулянтов.

Многие исследователи обсуждают связь групповой принадлежности крови и восприимчивости к новой коронавирусной инфекции [186]. Также на данный момент хорошо известно, что наличие не первой группы крови может являться одним из факторов риска развития венозных тромбозов [151]. В связи с появлением в литературе подобных исследований нами был проведен анализ распределения лиц, перенесших COVID-19, по группам крови по системе АВО, который не выявил особенностей восприимчивости к инфекции, связанных с групповой принадлежностью крови, однако, была отмечена более высокая частота тяжелого и среднетяжелого течения заболевания у представителей группы А(II). Представленные результаты согласуются с данными, полученными при анализе распределения групп крови у пациентов с COVID-19 и в других популяциях. Так, китайские и ливанские исследователи также показали, что самый высокий процент больных COVID-19 с тяжелыми симптомами имел группу крови А(II) [77; 186]. При сравнении коагуляционных параметров у пациентов с разной групповой принадлежностью крови, перенесших новую коронавирусную инфекцию, выявлено наличие меньшего гемостатического потенциала у обладателей группы крови О(I), в сравнении с лицами другой групповой принадлежности, за счет более низкой активности FVIII и vWF. Данное состояние системы гемостаза может иметь протективное значение для развития тромботических осложнений на фоне новой коронавирусной инфекции. Наличие группы крови О(I) у пациентов с COVID-19

может быть связано с более низкой смертностью, что может быть обусловлено в том числе меньшими прокоагулянтными изменениями у данных лиц и, соответственно, снижением риска ВТЭО [217].

Наличие «ковид-ассоциированной коагулопатии», тесно связанной с тромботическими осложнениями при COVID-19, диктует необходимость поиска информативных лабораторных тестов для выявления нарушений в системе гемостаза и эффективного мониторинга проводимой антитромботической терапии. Не вызывает сомнений ведущая роль в запуске изменений системы гемостаза иммунных реакций на фоне инфекционного процесса. Выявление дополнительных критериев, позволяющих прогнозировать течение заболевания и риск развития тромбоза, представляется важной задачей. Проведенное нами комплексное исследование показало, что развитие тромботических осложнений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией в первую очередь ассоциировано с тяжестью течения заболевания, которая обусловлена в свою очередь выраженностью эндотелиальной дисфункции и воспалительных реакций, возрастом, наличием сопутствующей патологии. У пациентов в острой стадии заболевания получены данные, свидетельствующие о наличии чрезмерной активации как плазменного, так и клеточного звеньев гемостаза, угнетении системы естественных антикоагулянтов, выраженной эндотелиальной дисфункции. Показано прогностическое значение для течения и исхода заболевания отдельных коагуляционных показателей, таких как ПТ по Квику, активность АТ, активность и уровень vWF, а также количество МЧ тромбоцитарного происхождения. Значимые прокоагулянтные изменения, вероятно, обуславливают низкую эффективность стандартных профилактических доз НМГ, и вследствие этого высокую частоту тромботических осложнений у пациентов на ранней стадии заболевания. ТГТ показал себя как информативный метод мониторинга системы гемостаза на фоне назначения антитромботической терапии у пациентов в остром периоде COVID-19. ТГТ, в отличие от стандартных показателей коагулограммы, может применяться для оценки эффективности антикоагулянтных препаратов на фоне выраженных воспалительных и прокоагулянтных изменений. Расчет ИК позволяет

оптимизировать интерпретацию показателей ТГТ и облегчить использование данного исследования для специалистов различного профиля. У пациентов, перенесших COVID-19, в течение не менее 6-ти месяцев после выздоровления, независимо от степени тяжести заболевания, сохраняются прокоагулянтные изменения плазменного звена гемостаза и наличие эндотелиальной дисфункции. Основными маркерами, ассоциированными с более тяжелым течением заболевания и, соответственно, повышенным риском тромботических осложнений, являются высокие значения активности FVIII, активности и уровня vWF. Однако при этом имеет место повышение активности некоторых естественных антикоагулянтов, возможно, носящее компенсаторный характер и более выраженное на фоне антитромботической терапии. В особенности стоит отметить повышение активности АТ у пациентов с легким течением заболевания, что может иметь протективное значение для возникновения ВТЭО. У пациентов, не принимающих антиагрегантные препараты, отмечается повышение активности тромбоцитов после перенесенного заболевания. Высокая функциональная активность тромбоцитов нормализуется на фоне приёма препаратов, содержащих АСК. Сохраняющиеся после острого периода заболевания протромботические изменения могут быть основанием для пролонгации антикоагулянтной терапии у пациентов из группы риска развития ВТЭО и/или назначения антиагрегантных препаратов у больных, имеющих факторы риска развития сердечно-сосудистых осложнений. ТГТ также является информативным инструментом для мониторинга антикоагулянтной терапии в группе пациентов после перенесенного заболевания, как и у больных в остром периоде. Анализ показателей ТГТ показал, что использование ПОАК у пациентов, перенёвших новую коронавирусную инфекцию, приводит к повышению эффективности работы антикоагулянтной системы протеина С, что может быть одним из ключевых моментов успеха антитромботической терапии. Расчёт ИК на основании результатов ТГТ подтверждает наличие гиперкоагуляции у пациентов, не получающих препараты антикоагулянтного действия, и снижение коагуляционного потенциала у лиц, получающих ПОАК, что отражает эффективность приема данных препаратов. ИК

является более эффективным и чувствительным способом мониторинга антикоагулянтной профилактики и терапии в сравнении с показателями коагулограммы.

Учитывая результаты проведенного исследования, предложены алгоритмы лабораторного исследования системы гемостаза в остром периоде и после перенесенного заболевания COVID-19. Использование данных алгоритмов в дополнение к стандартным методам обследования пациентов с COVID-19 может быть полезным для улучшения маршрутизации пациентов, динамического наблюдения на фоне назначения антикоагулянтных препаратов, с целью снижения частоты развития осложнений.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов в остром периоде COVID-19 наблюдаются выраженные протромботические изменения, которые характеризуются повышением отдельных маркеров гиперкоагуляции, таких как активность FVIII и уровень D-димера, увеличением генерации тромбина и угнетением естественных антикоагулянтов, выражающемся в снижении уровня протеина S и снижении эффективности работы системы протеина C.
2. Сдвиг гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции у пациентов, перенесших COVID-19, сохраняется до 6-ти месяцев после клинического выздоровления и характеризуется наличием повышенных значений индекса коагуляции на фоне прокоагулянтных изменений плазменного звена гемостаза, высокой функциональной активности тромбоцитов и снижения эффективности работы антикоагулянтной системы протеина C, более выраженных при среднетяжелом и тяжелом течении перенесённого заболевания.
3. У пациентов с COVID-19 как в остром периоде, так и после перенесенного заболевания имеет место эндотелиальная дисфункция, подтвержденная повышением активности и антигена фактора Виллебранда и снижением чувствительности к тромбомодулину, отражающим дисбаланс системы протеина C.
4. У пациентов с COVID-19 как в остром периоде, так и после клинического выздоровления отмечается активация тромбоцитарного звена гемостаза, характеризующаяся повышением количества тромбоцитарных микрочастиц, которое ассоциируется с увеличением их коагуляционной активности и повышением агрегации тромбоцитов после перенесенного заболевания.
5. Лабораторными критериями прогнозирования неблагоприятного течения COVID-19 являются: увеличение уровня D-димера выше 800 нг/мл, снижение протромбинового теста по Квику ниже 70%, повышение количества тромбоцитарных микрочастиц свыше 3,22% событий. Группа крови А (II) ассоциирована с более тяжелым течением COVID-19.

6. Тест генерации тромбина с расчетом индекса коагуляции является информативным методом выявления протромботических изменений и влияния антитромботической терапии на систему гемостаза у пациентов с COVID-19 в различные периоды заболевания.

7. Алгоритм анализа эффективности антитромботической терапии у пациентов с COVID-19 включает комплексное использование интегрального теста оценки системы гемостаза и отдельных показателей, имеющих прогностическое значение: теста генерации тромбина с последующим расчётом индекса коагуляции, протромбинового теста по Квику, уровня D-димера, количества тромбоцитарных микрочастиц.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендации представлены для врачей - гематологов, врачей клинической лабораторной диагностики, терапевтов, инфекционистов, кардиологов, реаниматологов, сосудистых хирургов.

1. Пациентам со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания рекомендуется проведение индивидуальной комплексной оценки состояния системы гемостаза, включая тест генерации тромбина, уровень D-димера, протромбиновый тест по Квику, определение количества тромбоцитарных микрочастиц для выявления риска неблагоприятного течения заболевания, а также оценки эффективности антитромботической терапии.
2. При использовании для оценки системы гемостаза теста генерации тромбина рекомендуется проводить расчет индекса коагуляции, обладающего высокой информативностью. Значение данного индекса ниже 1,3 является признаком гипокоагуляции, выше 2,5 – гиперкоагуляции.
3. У пациентов в остром периоде заболевания увеличение уровня D-димера выше 800 нг/мл, снижение протромбинового теста по Квику ниже 70%, повышение количества тромбоцитарных микрочастиц свыше 3,22% рекомендуется рассматривать в качестве предикторов неблагоприятного исхода заболевания.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты, полученные при выполнении данной работы, могут стать основой для более глубокого изучения вопросов относительно состояния системы гемостаза как при новой коронавирусной инфекции, так и при других заболеваниях инфекционного характера, что позволит оптимизировать лабораторную диагностику, а также разработать наиболее эффективные меры профилактики и лечения, позволяющие избежать развития опасных тромбоэмболических осложнений у пациентов данного профиля.

Актуальными направлениями для дальнейшего изучения являются:

1. Изучение механизмов нарушений системы свертывания крови, которые приводят к патологическим изменениям клеточного звена гемостаза, а также к развитию дисфункции эндотелия.
2. Возможность использования глобальных тестов для оценки состояния системы гемостаза и мониторинга эффективности антитромботической терапии у пациентов с инфекционными заболеваниями.
3. Поиск дополнительных чувствительных маркеров активации системы гемостаза, а также факторов неблагоприятного прогноза и/или исхода заболевания, которые возможно широко применять в практическом здравоохранении.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

Аг. vWF – антиген (уровень) фактора Виллебранда

АСК – ацетилсалициловая кислота

АТ – антитромбин

АЧТВ (АПТВ) – активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время

АФА – антифосфолипидные антитела

ВА – волчаночный антикоагулянт

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВТЭО – венозные тромбэмболические осложнения

ГБ – гипертоническая болезнь

ГЛГ – гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз

ГЦ – гомоцистеин

ДВС – синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови

иАПТВ – индекс активированного парциального тромбопластинового времени

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИК – индекс коагуляции

МА – максимальная амплитуда агрегации

Ме – медиана

МЧ – микрочастицы

НМГ – низкомолекулярный гепарин

НФГ – нефракционированный гепарин

ОИМ – острый инфаркт миокарда

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОРДС – острый респираторный дистресс – синдром

ОРВИ – острые респираторные вирусные инфекции

Пик – максимальная концентрация тромбина

ПОАК – прямые оральные антикоагулянты

ПТ – протромбиновый тест по Квику

ТГВНК – тромбоз глубоких вен нижних конечностей

ТГТ – тест генерации тромбина

ТМ – тромбомодулин

ТФ – тканевой фактор

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ФГ – фибриноген

ФЛ – отрицательно заряженные фосфолипиды

ЦНС – центральная нервная система

ЧТМ – чувствительность к тромбомодулину

ЭД – эндотелиальная дисфункция

ЭТП – эндогенный тромбиновый потенциал

АСЕ2 – ангиотензин превращающий фермент 2

АРС – активированный протеин С

ЕТ-1 – эндотелин I

FVIII – коагуляционный фактор VIII

ICAM-1 – молекула межклеточной адгезии-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule-1)

IFN – интерферон

IRFs – факторы регуляции интерферона

NETs – нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps)

NF-κB – ядерный фактор-κB

NEWS – шкала раннего прогнозирования

NO – оксид азота

P-селектин – растворимый P-селектин

PAI – ингибитор активатора плазминогена

PGI₂ – простоциклин

PC – протеин C

PPP – бедная тромбоцитами плазма (platelet-poor plasma)

PRP – богатая тромбоцитами плазма (platelet-rich plasma)

PFP – плазма свободная от тромбоцитов (platelet-free plasma)

PS – протеин S

Q1-Q3 – интерквартильный интервал

TLR – Toll-подобные рецепторы

TNF – фактора некроза опухоли

TFPI – ингибитор пути тканевого фактора (tissue factor pathway inhibitor),

TxA2 – тромбоксан A2

VCAM-1 – молекула адгезии сосудистых клеток-1 (Vascular cell adhesion molecule-1)

vWF – фактор Виллебранда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ возможностей применения нового метода определения уровня D-димера в плазме крови у больных с COVID-19 на госпитальном этапе / Д.А. Момот, А.Н. Мамаев, М.Г. Николаева [и др.] // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – №2 – С. 79 – 86.
2. COVID-19 - ассоциированная коагулопатия: обзор современных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике / К.В. Лобастов, И.В. Счастливец, О.Я. Порембская [и др.] // Амбулаторная хирургия. – 2020. – №3 – 4. – С. 36-51.
3. COVID-19 - ассоциированный артериальный тромбоз / О. Нематзода, А.Д. Гаибов, Е.Л. Калмыков [и др.] // Вестник Авиценны. – 2021. – Т. 23. – №1. – С.85 – 94.
4. Баркаган, З.С. Гемостаз / Руководство по гематологии / ред. А.И. Воробьев. – М.: Ньюдиамед, 2005. – Т. 3. – С. 9 – 147.
5. Беляков, Н.А. Природа и последствия постковидного синдрома / Н.А. Беляков, О.Е. Симакина, Т.Н. Трофимова // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. – 2022. – Т. 126. – №1. – С. 25 – 31.
6. Биологическая активность интерферонов при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Т.П. Оспельникова, Д.С. Левицкая, Л.В. Колодяжная [и др.] // Вопросы Вирусологии. – 2022. – Т. 67. – №. 2. – С. 142 – 152.
7. Буланов А.Ю. Новая коронавирусная инфекция, система гемостаза и проблемы дозирования гепаринов: это важно сказать сейчас / А.Ю. Буланов, Е.В. Ройтман // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2020. – №2. – С. 11 – 18.
8. Васина, Л.В. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры / Л.В. Васина, Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – №1. – С. 4 – 15.
9. Власов, Т.Д. Дисфункция эндотелия. Правильно ли мы понимаем этот термин? / Т.Д. Власов, Н.Н. Петрищев, О.А. Лазовская // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2020. – Т. 17. – № 2. – С. 76 – 84.

10. Власова, Т.И. Дисфункция эндотелия как типовое патологическое состояние / Т.И. Власова, Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – Т. 21. – №2. – С. 4 – 15.
11. Воробьев, П.А. Постковидный синдром: образ болезни, концепция патогенеза и классификация / П.А. Воробьев, А.П. Воробьев, Л.С. Краснова // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2021. – № 5 – 6. – С. 3 – 10.
12. Воробьева Н.А. Прогностическая значимость Д-димера при COVID-19 / Н.А. Воробьева, А.И. Воробьева // Проблемы стандартизации в здравоохранении. – 2021. – № 5 – 6. – С. 36 – 42.
13. Воробьева, Н.А. Ингаляции гепарина у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (обзор литературы) / Н.А. Воробьева, Е.В. Ройтман, Е.Ю. Мельничук // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2020. — №2. — С. 19 – 26.
14. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): временные методические рекомендации. Версия 18 от 26.10.2023 URL:https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/76f4d9e5aebc059b3c9a26fb6e57e2951afc8aca/ (дата обращения 12.03.2025).
15. Всемирная организация здравоохранения. (1995). МКБ-10: Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: 10-й пересмотр. – Том 1: Часть 2. – М.: Медицина, 633 с. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/87721> (дата обращения 12.03.2025).
16. Галстян, Г.М. Коагулопатия при COVID-19 / Г.М. Галстян // Пульмонология. – 2020. – Том 30. – № 5. –С. 645– 657.
17. Генерация тромбина у детей с генерализованными инфекционными заболеваниями и полиорганной недостаточностью / Л.П. Папаян, А.А. Вильниц, О.А. Смирнова [и др.] // Вестник гематологии. – 2017. – Т. XIII. – №3. – С. 4 – 8.
18. Гепарин: современные вопросы терапии / Л.В. Заклякова, Е.Г. Овсянникова, И.З. Китиашвили [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2018. – Т. 13. – №1. – С. 14 – 22.

19. Гомоцистеин и риск нефроцереброваскулярных заболеваний / И.Т. Муркамилов, К.А. Айтбаев, В.В. Фомин [и др.] // The scientific heritage. – 2020. – №50. – С. 29 – 35.
20. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н. Н. Петрищева. – СПб.: ИИЦ ВМА. – 2007. – 296 с.
21. Добровольский, А.Б. Образование тромбина и его функции в системе гемостаза / А.Б. Добровольский, Е.В. Титаева // Атеротромбоз. – 2013. – №1. – С. 66 – 72.
22. Зубаиров, Д.М. Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова – М.: Гэотар – Медиа, 2009. – 176 с.
23. Зубаиров, Д.М. Роль микровезикул в гемостазе – новое направление в изучении патофизиологии гемостаза / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова // Вестник гематологии. – 2005. – Т.1. – №2. – С. 15 – 20.
24. Зубаирова, Л.Д. Патогенетические подходы к исследованию маркёров венозного тромбоза / Л.Д. Зубаирова, И.Г. Мустафин, Р.М. Набиуллина // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94. – №5. – С. 685 – 691.
25. COVID-19 и сосудистые нарушения (обзор литературы) / Н.Н. Петрищев, О.В. Халепо, Ю.А. Вавиленкова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 90 – 98.
26. Изменение антикоагулянтного действия ривароксабана на протяжении суток / И.В. Гельцер, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко [и др.] // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2015. – Т. 174. – №4. – С. 77 – 79.
27. Изменение структуры венозных тромбоэмболических осложнений в популяции / Н.Г. Хорев, С.В. Сапелкин, А.В. Беллер [и др.] // Бюллетень медицинской науки. – 2020. – №2 (18). – С. 22 – 25.
28. Инюткина, А.А. Особенности иммунного ответа при COVID-19 / А.А. Инюткина, В.П. Никулина, М.А. Годков // Журнал им. Н.В. Склифосовского. Неотложная медицинская помощь. – 2023. – Т. 12. – №1. – С. 122 – 129.

29. Каландаров, Р.С. Распределение групповых антигенов эритроцитов на Земном шаре (обзор литературы) / Р.С. Каландаров, Л.Е. Давыдова, С.И. Донсков // Вестник службы крови России. – 2012 – №4. – С. 58 – 62.
30. Кардиометаболические нарушения при SARS-CoV-2-инфекции и постковидном синдроме / А.А. Старичкова, О.В. Цыганкова, Л.Д. Хидирова [и др.] // Лечащий Врач. – 2022. – Т. 25. – №3. – С. 49 – 58.
31. Карпович, Г.С. Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, ассоциированный с герпетической инфекцией / Г.С. Карпович, А.Е. Шестаков, Е.И. Краснова // РМЖ. Мать и дитя. – 2022. – Т.5. – №3. – С. 262 – 269.
32. Клинико-anamнестические характеристики острого коронарного синдрома после перенесенного COVID-19 / Н.В. Орлова, В.В. Ломайчиков, Т.И. Бонкало [и др.] // Вестник РАМН. – 2021. – Т. 76. №5. – С. 533 – 538.
33. Коронавирусная инфекция (COVID-19) и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания / А.Д. Макацария, К.Н. Григорьева, М.А. Мингалимов [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2020. – Т. 14. – № 2. – С. 123 – 131.
34. Кузнецов, С.И. Коагулопатия при инфекции COVID-19 / С. И. Кузнецов, Е.А. Шестаков, Е.Б. Жибурт // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2020. – №4. – С. 31 – 34.
35. Кузник, Б.И. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции / Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон, Н.С. Линькова // Успехи физиологических наук. – 2020. – Т.51. – № 4. – С. 51 – 63.
36. Кузник, Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита: Экспресс-издательство. – 2010. – 826 с.
37. Лобастов, К.В. Эффективность и безопасность применения антитромботической терапии при COVID-19 / К.В. Лобастов, О.Я. Порембская, И.В. Счастливец // Амбулаторная хирургия. – 2021. – Т. 18. – № 2. – С. 17 – 30.
38. Микрочастицы клеток крови у больных COVID-19 как маркер активации системы гемостаза / О.В. Сироткина, А.И. Ермаков, Л.Б. Гайковая [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2020. – №4. – С. 35 – 40.

39. Момот, А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики / А.П. Момот. – СПб.: ФормаТ. – 2006. – 208 с.
40. Мультимерный анализ фактора Виллебранда: новые диагностические возможности / А.В. Полетаев, Е.А. Серёгина, А.В. Пшонкин [и др.] // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2021. – Т. 2. – № 8. – С 35 – 41.
41. Наместников, Ю.А. Тест генерации тромбина – интегральный показатель системы свертывания крови / Ю.А. Наместников // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т. 55. – № 2. – С. 32 – 39.
42. Нарушения гемостаза, тромбозы, антифосфолипидные антитела у пациентов с COVID-19 / Т.М. Решетняк, Ф.А. Чельдиева, А.М. Лиля [и др.] // Consilium Medicum. – 2021. – Т. 23. – № 1. – С. 35 – 42.
43. Наследственные тромбофилии: учеб. пособие / Л.П. Папаян, О.Г. Головина, О.Ю. Матвиенко [и др.]. – СПб.: изд-во ООО «ИПК «Гангут»», 2022. – 24 с.
44. Наследственные тромбофилии / Л.П. Папаян, О.Г. Головина, О.Ю. Матвиенко [и др.] // Вестник гематологии. – 2023. – Т. XIX. – №3. – С. 52 – 62.
45. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек. Обзор литературы и собственные данные / И.Ю. Панина, А.Ш. Румянцев, М.А. Меншутина [и др.] // Нефрология. – 2007. – Т. 11. - №4. – С. 28 – 46.
46. Острый инсульт у пациентов с COVID-19 / Е.Н. Кабаева, К.А. Тушова, Н.В. Ноздрюхина [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2023. – Т. 18. – №1. – С. 110 – 116.
47. Острый инсульт на фоне новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Е.Н. Кабаева, П.Ф. Литвицкий, О.П. Артюков [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – №4. – С.41 – 53.
48. Отделенов, В.А. Возможность применения прямых пероральных антикоагулянтов для профилактики тромбоэмболических событий у пациентов с COVID-19 / В.А. Отделенов, К.Б. Мирзаев, Д.А. Сычёв // Качественная клиническая практика. — 2020. — №S4. — С.18 – 22.
49. Оценка состояния микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19 методом капилляроскопии ногтевого ложа / Е.Е. Ладожская-Гапеенко, К.Н.

- Храпов, Ю.С. Полушин [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 18. - № 1. – С. 27 – 36.
50. Папаян, Л.П. Болезнь Виллебранда: этиология, патогенез, особенности лабораторной диагностики (лекция) / Л.П. Папаян // Вестник гематологии. – 2021. – Т. XVII. – № 4. – С. 32 – 42.
51. Папаян, Л.П. Общие представления о системе гемостаза. Гемофилии. ДВС. Тромбофилии / Л.П. Папаян, С.И. Капустин, В.М. Шмелева, В.А. Кобилянская // Гематология: Национальное руководство / под ред. О.А. Рукавицына. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2015. – С. 89 – 132.
52. Поражение сердечно-сосудистой системы при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Г.А. Березовская, Н.Н. Петрищев, Е.В. Волкова [и др.] // Кардиология: новости, мнения, обучение. – 2022. – Т. 10. – № 4. – С. 37 – 47.
53. Постковидный синдром — полиморфизм нарушений при новой коронавирусной инфекции / Н.А. Беляков, Т.Н. Трофимова, В.В. Рассохин [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2021. – Т. 13. – № 4. – С. 7 – 20.
54. Преображенская, И.С. COVID-19 и сердечно-сосудистая патология: обзор литературы / И.С. Преображенская // Поведенческая неврология. – 2021. – № 2. – С. 56 – 63.
55. Работинский, С.Е. Патогенетические механизмы развития гипофибриногенемии при COVID-19 / С.Е. Работинский, Е.Л. Буланова // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2021. – № 1. – С. 26 – 31.
56. Реалии применения антикоагулянтной терапии при COVID-19 / Е.В. Ройтман, Т.В. Вавилова, С.М. Маркин [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — №1. – С. 18 – 26.
57. Ройтман, Е.В. Дозирование низкомолекулярных гепаринов и анти-фактор Ха активность у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 / Е.В. Ройтман, А.Ю. Буланов, В.М. Печенников // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2020. – №4. – С.57 – 67.

58. COVID-19, септический шок и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Часть 2 / В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария [и др.] // Вестник РАМН. — 2020. — Т. 75. — № 3. — С. 214 – 225.
59. Симарова, И.Б. Геморрагические осложнения новой коронавирусной инфекции: актуальная клиническая проблема / И.Б. Симарова, С.Н. Переходов, А.Ю. Буланов // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — №3. — С. 12 – 15.
60. Смольникова М.В. Протеины лектинового пути активации системы комплемента: иммунобиологические функции, генетика и участие в патогенезе заболеваний человека / М.В. Смольникова, С.Ю. Терещенко // Инфекция и иммунитет. — 2022. — Т. 12. — № 2. — С. 209 – 221.
61. Современные возможности и перспективы в оценке антикоагулянтного эффекта прямых оральных антикоагулянтов / А.И. Миронова, Е.С. Кропачева, А.Б. Добровольский [и др.] // Атеротромбоз. — 2022. — Т. 12. — №1. — С. 20 – 28.
62. Сорокина, Е.Ю. Острые нарушения функции печени у пациентов отделения интенсивной терапии и методы метаболической терапии / Е.Ю. Сорокина // Медицина неотложных состояний. — 2015. — Т. 71. — № 8. — С. 35 – 45.
63. Состояние гемодинамики и вариабельность сердечного ритма у тяжелобольных COVID-19 в разгар заболевания и в процессе реабилитации / Б.И. Кузник, Ю.Н. Смоляков, Ю.К. Шаповалов [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2021. — № 1. — С.31 – 40.
64. Сравнение шкал qSOFA, NEWS и критериев SIRS в прогнозе исходов у пациентов приемного отделения в зависимости от наличия инфекции: результаты проспективного наблюдательного исследования / М.Н. Астафьева, В.А. Багин, А.В. Молдованов [и др.] // КМАХ. — 2019. Т. 21. — №1. — С. 18 – 25.
65. Сулимов, В.А. Сравнительная эффективность и безопасность новых пероральных антикоагулянтов / В.А. Сулимов, Д.А. Напалков, А.А. Соколова // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. — 2013. Т. 9. — №4. — С 406 – 410.
66. Трисветова, Е.Л. Постковидный синдром: клинические признаки, реабилитация // Е.Л. Трисветова // Кардиология в Беларуси. — 2021. — Т. 13. — № 2. — С. 268 – 279.

67. Тромботические осложнения у пациентов с перенесенной новой коронавирусной инфекцией / А.Р. Краев, О.В. Соловьев, С.К. Кононов [и др.] // Вятский медицинский вестник. – 2023. – Том 78. – № 2. – С. 26 – 31.
68. Тромбофилии. Врожденные и приобретенные нарушения в системе гемостаза, предрасполагающие к развитию тромбоза / Л.П. Папаян, С.И. Капустин, В.М. Шмелева [и др.] // Рациональная фармакотерапия в гематологии. Под ред. проф. О.А. Рукавицына. – М.: «Литтерра», 2021. – С. 15 – 28.
69. Тромбоцитарные микровезикулы и их роль в обеспечении гемостатического потенциала (обзор литературы) / А.П. Момот, Н.О. Царигородцева, Д.В. Фёдоров [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – Т. 40. – № 2. – С. 4 – 14.
70. Челомбитько, Е.Г. Гемостатические нарушения у больных с постковидным синдромом и методы их нелекарственной коррекции / Е.Г. Челомбитько, Е.В. Гусакова // Физиотерапевт. – 2022. – № 6. – С. 39 – 47.
71. Чернова, Е.В. Фактор Виллебранда / Е.В. Чернова // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2018. – Т. 10. – № 4. – С. 73 – 80.
72. Эндотелиальная дисфункция и методы ее определения / А.И. Мартынов, Н.Г. Аветяк, Е.В. Акатова [и др.] // Российский медицинский журнал. – 2005. – Т. 10. – №4. – С. 94 – 98.
73. Эндотелиальная дисфункция как звено патогенеза COVID-19 / М.Б. Иванов, Е.Б. Шустов, Б.С. Литвинцев [и др.] // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2020. – Т. 21. – С. 884 – 903.
74. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China 2019 / N. Zhu, D. Zhang, W. Wangx [et al.] // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 382. – № 8. – P. 727 – 33.
75. A prospective study of 12-week respiratory outcomes in COVID-19-related hospitalizations / A.S. Shah, A.W. Wong, C.J. Hague [et al.] // Thorax. – 2020. – Vol. 76. – №4. – P. 402 – 404.

76. A relative ADAMTS-13 deficiency supports the presence of a secondary microangiopathy in COVID 19 / N. Martinelli, M. Montagnana, F. Pizzolo [et al.] // *Thromb Res.* – 2020. – Vol. 193. – P. 170 – 172.
77. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18.– №4. – P. 844 – 847.
78. Activated protein C / J.H. Griffin, J.A. Fernández, A.J. Gale [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2007. – Vol. 5. – №1. – P. 73 – 80.
79. Acute myocardial infarction and influenza: a meta-analysis of case-control studies / M. Barnes, A.E. Heywood, A. Mahimbo [et al.] // *Heart.* – 2015. – Vol. 101. – № 21. – P. 1738 – 1747.
80. ADAMTS-13 activity, high VWF and FVIII levels in the pathogenesis of deep vein thrombosis / M.T. Pagliari, M. Boscarino, A. Cairo [et al.] // *Thromb Res.* – 2021. – Vol. 197. – P. 132 – 137.
81. Age, S. Existing conditions of COVID-19 cases and deaths. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) / S. Age // *China CDC Weekly.* – 2020. – Vol. 2. – № 8. – P. 113 – 122.
82. Alveolar macrophage activation and cytokine storm in the pathogenesis of severe COVID-19 / C. Wang, J. Xie, L. Zhao [et al.] // *EBioMedicine.* – 2020. – Vol.57. – P. 102833.
83. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target / H. Zhang, J.M. Penninger, Y. Li [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2020. – Vol. 46. – № 4. – P. 586 – 590.
84. Anthony, R.F. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis / R.F. Anthony, S. Perlman // *Methods in molecular biology.* – 2015.– Vol. 1282. – P. 1 – 23.
85. Antiplatelet therapy in prevention of cardio- and venous thromboembolic events / S.R. Steinhubl, J.W. Eikelboom, E.M. Hylek [et al.] / *J Thromb Thrombolysis.* – 2014. – Vol. 37. – №3. – P. 362 – 371.

86. Antiplatelet therapy use and the risk of venous thromboembolic events in the raloxifene use for the heart (RUTH) trial / C.S. Duvernoy, A.A. Yeo, M. Wong [et al.] // *J Womens Health (Larchmt)*. – 2010. – Vol. 19. – №8. – P. 1459 – 1465.
87. Aspirin in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. Randomized Controlled Trial / RECOVERY Collaborative Group // *Lancet*. – 2022. – Vol. 399. – № 10320. – P. 143 – 151.
88. Attributes and predictors of long COVID / C.H. Sudre, B. Murray, T. Varsavsky [et al.] // *Nature medicine*. – 2021. – Vol. 27. – № 4. – P. 626 – 631.
89. Autoantibodies against human epithelial cells and endothelial cells after severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus infection / Y.-H. Yang, Y.-H. Huang, Y.-H. Chuang [et al.] // *J Med Virol*. – 2005. – Vol. 77. – №1. – P. 1 – 7.
90. Baig, A.M. Chronic COVID syndrome: need for an appropriate medical terminology for long-COVID and COVID long-haulers / A.M. Baig // *J Med Virol*. – 2021. – Vol. 93. – № 5. – P. 2555 – 2556.
91. Becattini, C. Aspirin for prevention and treatment of venous thromboembolism / C. Becattini, G. Agnelli // *Blood Reviews*. – 2014. – V. 28. – № 3. – P. 103 – 108.
92. Callard, F. How and why patients made Long Covid / F. Callard, E. Perego // *Social Science & Medicine*. – 2021. – Vol. 268. – P. 113426.
93. Cardiac and arrhythmic complications in patients with COVID-19 / A.N. Kochi, A.P. Tagliari, G.B. Forleo [et al.] // *J Cardiovasc Electrophysiol*. – 2020. – Vol. 31. – №5. – P. 1003 – 1008.
94. Carfi, A. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19 / A. Carfi, R. Bernabei, F. Landi // *JAMA*. – 2020. – Vol. 324. – № 6. – P. 603 – 605.
95. Cañete, P.F. COVID-19 makes B cells forget, but T cells remember / P.F. Cañete, C.G. Vinuesa // *Cell*. – 2020. – Vol. 183. – №. 1. – P. 13 – 15.
96. Characteristics of coagulation alteration in patients with COVID-19 / H. Luo, C. You, S. Lu [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2020. – №99. – P. 1205 – 1208.

97. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding / Y. Xu, X. Li, B. Zhu [et al.] // *Nature Medicine*. – 2020. – Vol. 26. – №4. – P. 502 – 505.
98. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China / D. Wang, B. Hu, C. Hu [et al.] // *JAMA*. – 2020. – Vol.323. – №11. – P. 1061 – 1069.
99. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] / *Lancet*. – 2020. – Vol. 395.– № 10223. – P. 497 – 506.
100. Clinical findings in a patient with haemophilia A affected by COVID-19 / D. Cui, A. Zhang, A. Liu [et al.] // *Haemophilia*. – 2020. – Vol.26. – P. e214 – e216.
101. CNS inflammatory vasculopathy with antimyelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in COVID-19 / A.A. Pinto, L.S. Carroll, V. Nar [et al.] / *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. – 2020. – Vol. 7. – №5. – P. e813.
102. Coagulopathy and thrombosis as a result of severe COVID-19 infection / U.K. Katneni, A. Alexaki, R.C. Hunt [at al.] // *A Microvascular Focus. Thromb Haemost*. – 2020. – Vol. 120. – № 12. – P.1668 – 1679.
103. Commentary: Origin and evolution of pathogenic coronaviruses / S. Adachi, T. Koma, N. Doi [et. al.] // *Front Immunol*. – 2020. – Vol. 21. №11. – P. 811.
104. Comparative efficacy and safety of sulodexide and other extended anticoagulation treatments for prevention of recurrent venous thromboembolism: A Bayesian network meta-analysis / G. Pompilio, D. Integlia, J. Raffetto [et al.] // *TH Open*. – 2020. – Vol. 4. – № 2. – P. e80 – e93.
105. Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19: An updated analysis / F.A. Klok, M.J.H.A. Kruip, N.J.M. van der Meer [et al.] // *Thromb. Res*. – 2020. – Vol. 191. – P. 148 – 150.
106. COVID-19 and multi-organ response / S. Zaim, J.H. Chong, V. Sankaranarayanan [et al.] // *Curr Probl Cardiol*. – 2020. – Vol. 45. – №. 8. – P.100618.

107. COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options / J.G. Tomasz, S.A. Mohiddin, A. Dimarco [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2020. – Vol. 116. – №10 – P. 1666 – 1687.
108. COVID-19 and venous thromboembolism: a meta-analysis of literature studies / A.D. Minno, P. Ambrosino, I. Calcaterra [et al.] // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* – 2020. – Vol. 46. – №7. – P. 763 – 771.
109. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D.F. McAuley, M. Brown [et al.] // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – №. 10229. – P.1033 – 1034.
110. COVID-19: the vasculature unleashed / L.A Teuwen, V. Geldhof, A. Pasut [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2020. – Vol. 20. – P. 389 – 391.
111. Cui, J. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses / J. Cui, F. Li, Z. Shi // *Nature Reviews. Microbiology.* – 2019. – Vol. 17. – № 3. – P. 181 – 192.
112. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19 / L. Zhang, X. Yan, Q. Fan [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – № 6. – P. 1324 – 1329.
113. Description and proposed management of the acute COVID19 cardiovascular syndrome / N.S. Hendren, M.H. Drazner, B. Bozkurt [et al.] // *Circulation.* – 2020. – Vol. 141. – № 23. – P. 1903 – 1914.
114. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients / H-Q. Yu, B-Q. Sun, Z.-F. Fang [et al.] // *Eur Respir J.* – 2020. – Vol. 56. – №2. – P. 2001526.
115. Dorgalaleh, A. Bleeding and bleeding risk in COVID-19 / A. Dorgalaleh // *Semin Thromb Hemost.* – 2020. – Vol. 46. – №7. – P. 815 – 818.
116. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China / C. Qin, L. Zhou, Z. Hu [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2020. – Vol. 71. – №15. – P. 762 – 768.
117. Effect of sulodexide on circulating blood cells in patients with mild COVID-19 / A. Melkumyants, L. Buryachkovskaya, N. Lomakin [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11. – № 7. – P. 1995.

118. Effects of renin-angiotensin inhibition on ACE2 and TMPRSS2 expression: insights into COVID-19 / W. Congqing, D.Y. Profile, A.E. Profile [et al.] // *Hypertension*. – 2020. – Vol.76. – P. 29 – 30.
119. Efficacy and safety of high-dose thromboprophylaxis in morbidly obese inpatients / T.F. Wang, P.E. Milligan, C.A. Wong [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2014. – Vol. 111. – №1. – P. 88 – 93.
120. Endothelial cell dysfunction: a major player in SARS-CoV-2 infection (COVID-19)? / A. Huertas, D. Montani, L. Savale [et al.] // *Eur Respir J.* – 2020. – Vol. 56. – № 1. – P. 2001634.
121. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A.J. Flammer, P. Steiger [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – № 10234. – P. 1417 – 1418.
122. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19 / A. Bonaventura, A. Vecchié, L. Dagna [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2021. – Vol. 21. – № 5. – P. 319 – 329.
123. Endotheliopathy in COVID-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study / G. Goshua, A.B. Pine, M.L. Meizlish [et al.] // *Lancet Haematol.* – 2020. – Vol. 7. – № 8. – P. e575 – e582.
124. Engelmann, B. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity / B. Engelmann, S. Massberg // *Nat Rev Immunol.* – 2013. – Vol.13. – №1. – P. 34 – 45.
125. Esmon, C. T. Protein C pathway in sepsis / C.T. Esmon // *Ann Med.* – 2002. – Vol. 34. – № 7 – 8. – P. 598 – 605.
126. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission / X. Xu, P. Chen, J. Wang [et al.] // *Sci China Life Sci.* – 2020. – Vol. 63. – P. 457 – 460.
127. Favaloro, E.J. Increased VWF and decreased ADAMTS-13 in COVID-19: creating a milieu for (micro)thrombosis / E.J. Favaloro, B.M. Henry, G. Lippi // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2021. – Vol. 47. – № 4. – P. 400 – 418.
128. Follicular B2 cell activation and class switch recombination depend on autocrine C3ar1/C5ar1 signaling in B2 cells / J. Paiano, M. Harland, M.G. Strainic [at al.] // *J Immunol.* – 2019. – Vol. 203. – №2. – P. 379 – 388.

129. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients / M. Zheng, Y. Gao, G. Wang [et al.] // *Cell. Mol. Immunol.* – 2020. – Vol. 17. – № 5. – P. 533 – 535.
130. Ge, X.Y. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor / X.Y. Ge, J.L. Li, X.L. Yang [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 503. – №7477. – P. 535 – 538.
131. Giannis, D. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past / D. Giannis, I.A. Ziogas, P. Gianni // *J. Clin. Virol.* – 2020. – Vol.127. – P. 104362.
132. Guo, R.F. Role of C5a in inflammatory responses / R.F. Guo, P.A Ward // *Annual review of immunology.* – 2005. – Vol. 23. – P. 821 – 852.
133. Haemostasias and innate immunity – a complementary relationship. A review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways / C.B Keragala, D.F. Draxler, Z.K McQuilten [et al.] // *British Journal of Haematology* – 2018. – Vol. 180. – P. 782 – 798.
134. Heit, J. Epidemiology of venous thromboembolism / J. Heit // *Nat Rev Cardiol.* – 2015. – Vol. 12. – №8. – P.464 – 474.
135. Heparin and anticoagulation / A. Onishi, K. St Ange, J.S. Dordick, [et al.] // *Front. Biosci. (Landmark Ed).* – 2016. – Vol. 21. – №7. – P. 1372 – 1392.
136. Hepner M. Protein C. / M. Hepner, V. Karlaftis // *Methods in Molecular Biology.* – 2013. – Vol. 992. – P. 365 – 372.
137. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study / J. Helms, C. Tacquard, F. Severac [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2020. – Vol. 46. – № 6. – P. 1089–1098.
138. Histopathological observations in COVID-19: a systematic review / V. Deshmukh, R. Motwani, A. Kumar [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2021. – Vol. 74. – №2. – P. 76 – 83.
139. Host-viral infection maps reveal signatures of severe COVID-19 patients // P. Bost, A. Giladi, Y. Liu [et al.] // *Cell.* – 2020. – Vol.181. – №7. – P. 1475 – 1488.
140. How COVID-19 affects the brain / M. Boldrini, P.D. Canoll, R.S. Klein [et al.] // *JAMA Psychiatry.* – 2021. – Vol. 78. – №6. – P. 682 – 683.

141. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis / M. Panigada, N. Bottino, P. Tagliabue [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – № 7. – P. 1738 – 1742.
142. Hypertension, thrombosis, kidney failure, and diabetes: is COVID-19 an endothelial disease? A comprehensive evaluation of clinical and basic evidence / C. Sardu, J. Gambardella, M.B. Morelli [et al.] // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9. – № 5. – P.1417.
143. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia / D. McGonagle, J.S. O'Donnell, K. Sharif [et al.] // *Lancet Rheumatol.* – 2020. – Vol. 2. – № 7. – P. e437 – e445.
144. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19 / L. Perico, A. Benigni, F. Casiraghi [et al.] // *Nat Rev Nephrol.* – 2021. – Vol. 17. – №1. – P. 46 – 64.
145. Immunological profiling of COVID-19 patients with pulmonary sequelae / J. Wu, L. Tang, Y. Ma [et al.] // *mBio.* – 2021. – Vol. 12. – № 5. – P. e0159921.
146. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients with COVID-19 / S. Middeldorp, M. Coppens, T.F. van Haaps [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol.18. – №8. – P. 1995 – 2002.
147. Innate immune sensing of coronavirus and viral evasion strategies / Y. Kasuga, B. Zhu, K-J. Jang [at al.] / *Exp Mol Med.* – 2021. – Vol. 53. – №5. – P. 723 – 736.
148. Ip, W.K.E. Mannose-binding lectin in severe acute respiratory syndrome coronavirus infection / W.K.E. Ip, K.H. Chan, H.K.W. Law // *J. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 191. – №10. – P. 1697 –1704.
149. Ischemic stroke in COVID-19-positive patients: an overview of SARS-CoV-2 and thrombotic mechanisms for the neurointerventionalist / A. Zakeri, A.P. Jadhav, B.A. Sullenger [et al.] // *J. Neurointerv. Surg.* – 2021. – Vol. 13. – № 3. – P. 202 – 206.
150. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID19 / J. Thachil, H. Wada, S. Gando [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – №5. – P. 1023 – 1026.

151. Jenkins, V. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? / V. Jenkins, J.S. O'Donnell // *Transfusion*. – 2006. – Vol. 46. – № 10. – P. 1836 – 1844.
152. Kakodkar, P.A comprehensive literature review on the clinical presentation, and management of the pandemic coronavirus disease 2019 (COVID-19) / P.A. Kakodkar, N. Kaka, M.N. Baig // *Cureus*. – 2020. – V. 12. – № 4. – P. e7560.
153. Kohen, J. Strategies shift as coronavirus pandemic looms / J. Kohen, K. Kai // *Science*. – 2020. – Vol. 367. – № 6481. – P. 962 – 963.
154. Laidlaw, B.J. The germinal centre B cell response to SARS-CoV-2 / B.J. Laidlaw, A.H Ellebedy // *Nat Rev Immunol*. – 2022. – Vol. 22. – №1. – P. 7 – 18.
155. Lippi, G. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis / G. Lippi, M. Plebani, B.M. Henry // *Clin. Chim. Acta*. – 2020. – Vol. 506. – P. 145 – 148.
156. Lo, M.W. COVID-19: complement, coagulation, and collateral damage / M.W. Lo, C. Kemper, T.M. Woodruff // *J Immunol*. – 2020. – Vol. 205. – №6. – P. 1488 – 1495.
157. Loo, J. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms / J. Loo, D.A. Spittle, M. Newnham // *Thorax*. – 2021.–Vol. 76. – №4. – P. 412 – 420.
158. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study / C. Huang, L. Huang, Y. Wang [et al.] // *Lancet*. – 2021. –Vol. 397. – №. 10270. – P. 220 – 232.
159. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses / P.S. Masters // *Advances in Virus Research*. Academic Press. – 2006. – V. 66. – P. 193 – 292.
160. Moreno-Perez, O. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: a mediterranean cohort study / O. Moreno-Perez, E. Merino, J-M. Leon-Ramirez // *J Infect*. – 2021. – Vol. 82. – №3. – C.378 – 383.
161. Musher, D.M. Acute infection and myocardial infarction / D.M. Musher, M.S. Abers, V.F. Corrales-Medina // *N Engl J Med*. – 2019. – Vol. 380. – №2. – P. 171 – 176.

162. Neurological complications of coronavirus infection; a comparative review and lessons learned during the COVID-19 pandemic / M. Sharifian-Dorche, P. Huot, M. Osherov [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2020. – Vol. 15. – № 417. – P. 117085.
163. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 novel coronavirus in the early stage / J. Liu, Y. Liu, P. Xiang [et al.] // *Transl Med.* – 2020. – Vol. 18. – P. 206.
164. Nieuwland, P. Platelet – derived microparticles / P. Nieuwland, A. Stark // – *Platelets: Alan D. Michelson ed, chapter 20, 2th edn.* – Elsevier Inc., 2007 – P. 403 – 414.
165. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19 / J. Meinhardt, J. Radke, C. Dittmayer [et. al.] // *Nat Neurosci.* – 2021. – Vol. 24. – №2. – P. 168 – 175.
166. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2 / T. Xiaolu, Ch. Wu, X. Li [at al.] // *National Science Review.* – 2020. – Vol. 7. – № 6. – P. 1012 – 1023.
167. Patients with congenital bleeding disorders appear to be less severely affected by Sars-Cov-2: is inherited hypocoagulability overcoming acquired hypercoagulability of coronavirus disease 2019 (COVID-19)? / A. Dorgalaleh, A. Dabbagh, S. Tabibian [et al.] // *Semin Thromb Hemost.* – 2020. – Vol. 46. – № 7. – P. 853 – 855.
168. Peñaloza H.F. Interleukin 10 modulation of neutrophil subsets infiltrating lungs during streptococcus pneumoniae infection / H.F Peñaloza, F.J. Salazar-Echegarai, S.M. Bueno // *Biochem Biophys Rep.* – 2017. – Vol.13. – P. 12 – 16.
169. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19 / E.D. Hottz, I.G Azevedo-Quintanilha, L. Palhinha [et al.] // *Blood.* – 2020. – Vol. 136. – № 11. – P. 1330 – 1341.
170. Platelets and COVID-19 / A. Rohlfing, D. Rath, T. Geisler [et al.] // *Hamostaseologie.* – 2021. – Vol. 41. – №5. – P. 379 – 385.
171. Platelets can associate with SARS-CoV-2 RNA and are hyperactivated in COVID-19 / Z. Younes, F. Puhm, I. Allaey [et al.] // *Circ Res.* – 2020. – Vol. 127. – № 11. – P. 1404 – 1418.

172. Popi, A.F. Interleukin-10 secreted by B-1 cells modulates the phagocytic activity of murine macrophages in vitro / A.F. Popi, J.D. Lopes, M. Mariano // *Immunology*. – 2004. – Vol. 113. – № 3. – P. 348 – 54.
173. Post COVID-19 syndrome in patients with asymptomatic/mild form / A. Malkova, I. Kudryavtsev, A. Starshinova [et al.] // *Pathogens*. – 2021. – Vol. 10. – P. 1408.
174. Post-acute COVID-19 syndrome / A. Nalbandian, K. Sehgal, A. Gupta [et al.] // *Nat Med*. – 2021. – Vol. 27. – №4. – P. 601 – 615.
175. Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with COVID-19: retrospective cohort study / D. Ayoubkhani, K. Khunti, V. Nafilyan [et al.] // *BMJ*. – 2021. – Vol. 372. – P. 693.
176. Post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): a meta-narrative review of pathophysiology, prevalence, and management / B. Munipalli, L. Seim, N.L. Dawson [et al.] // *SN Comprehensive Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 4. – № 1. – P. 90.
177. Prognostic value of thrombin generation parameters in hospitalized COVID-19 patients / M.E. Morena-Barrio, C. Bravo-Pérez, A. Miñano [et al.] // *Sci Rep*. – 2021. – Vol. 11. – P. 7792.
178. Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection / H. Han, L. Yang, R. Liu [et al.] // *Clin Chem Lab Med*. – 2020. – Vol. 58. – №7. – P. 1116 – 1120.
179. Protein C and acute inflammation: a clinical and biological perspective / S.C. Christiaans, B.M. Wagener, C.T. Esmon [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2013. – Vol. 305. – №7. – P. 455 – 466.
180. Proteomic and metabolomic characterization of COVID-19 patient sera // B. Shen, X. Yi, Y. Sun [et al.] // *BiCel*. – 2020. – Vol.182. – №1. – P. 59 – 72.
181. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19 / Y. Zuo, S.K. Estes, R.A. Ali [et al.] // *Sci Transl Med*. – 2020. – Vol. 12. – № 570. – P. eabd3876.
182. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in COVID-19 / M. Ackermann, S.E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // *N Engl J Med*. – 2020. – Vol. 383. – № 2. – P. 120 – 128.

183. Pulmonary vascular system: a vulnerable target for COVID-19 / A. Jiayuan, H. Weiqi, W. Min [et al.] // *MedComm.* – 2021. – Vol. 2 – P. 531–547.
184. Rationales and uncertainties for aspirin use in COVID-19: a narrative review / H.S. Ahmed, E. Merrell, M. Ismail [et al.] // *Fam Med Community Health.* – 2021. – Vol. 9. – №2. – P. e000741.
185. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) / B. Diao, C. Wang, Y. Tan [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 1. – №11. – P. 827.
186. Relationship between the ABO blood group and the COVID-19 susceptibility / J. Zhao, Y. Yang, H. Huang [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2021. – Vol. 73. – №2. – P. 328 – 331.
187. Rezende, S.M. Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S–C4b binding protein complex / S.M. Rezende, R.E. Simmonds, D.A. Lane // *Blood.* – 2004. – Vol. 103. – №4. – P. 1192 – 1201.
188. Richard, C.B. Aspirin and the prevention of venous thromboembolism / C.B. Richard // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 366 – №21. – P. 2028 – 2030.
189. Rivaroxaban in outpatients with mild or moderate COVID-19: Rationale and design of the study CARE (CARE - Coalition COVID-19 Brazil VIII) / G. Oliveira, P. Neves, H. Oliveira [et al.] // *Arq Bras Cardiol.* – 2023. – Vol. 120. – №3. – P. e20220431.
190. Rivaroxaban versus no anticoagulation for post-discharge thromboprophylaxis after hospitalisation for COVID-19 (MICHELLE): an open-label, multicentre, randomised, controlled trial / E. Ramacciotti, L.B. Agati, D. Calderaro [et al.] // *Lancet.* – 2022. – Vol. 399. – № 10319. – P. 50 – 59.
191. Role of endothelial dysfunction in the thrombotic complications of COVID-19 patients / E. Falcinelli, E. Petito, C. Becattini [et al.] // *J Infect.* – 2021. – Vol. 82. – №5. – P. 186 – 230.
192. Role of thrombodynamics global coagulation test in improving treatment results in patients with coronavirus infection at a COVID-19 hospital / A. Krylov, T. Khorobrykh, A. Petrovskaya [et al.] // *Georgian Med News.* – 2021. – Vol. 313. P. 72 – 79.

193. Role of von Willebrand factor and ADAMTS-13 in the pathogenesis of thrombi in SARS-CoV-2 infection: time to rethink // N. Morici, M. Bottiroli, R. Fumagalli [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol.120. – №9. – P. 1339 – 1342.
194. Schulman, S. Venous thromboembolism in COVID-19 / S. Schulman, Y. Hu, S. Konstantinides // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 120. – №12. – P. 1642 – 1653.
195. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) / S. Bialek, E. Boundy, V. Bowen [et al.] // *MMWR*. – 2020. – Vol. 69. – №12. – P. 343 – 346.
196. Simultaneous depression of immunological synapse and endothelial injury is associated with organ dysfunction in communityacquired pneumonia / R. Menéndez, R. Méndez, R. Almansa [et al.] // *J. Clin. Med*. – 2019. – Vol.8. – №9. – P. 1404.
197. ST-elevation myocardial infarction in patients with COVID-19 clinical and angiographic outcomes // G.G. Stefanini, M. Montorfano, D. Trabattoni [et al.] // *Circulation*. – 2020. – Vol. 141. – № 25. – P. 2113 – 2116.
198. Sulodexide in the treatment of patients with early stages of COVID-19: a randomized controlled trial / A.J Gonzalez, J. Raffetto, A.G Hernandez [et al.] // *Thromb Haemost*. – 2021. – Vol. 121. – №7. – P. 944 – 954.
199. Tan, H.W. Angiotensin-converting enzyme 2: the old door for new severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection / H.W. Tan, Y-M. Xu, A.T.Y. Lau // *Rev Med Virol*. – 2020 – Vol. 30. – №5. – P. e2122.
200. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps // B.J. Barnes, J.M. Adrover, A. Baxter-Stoltzfus [et al.] // *Exp. Med*. – 2020. – Vol. 217. – № 6. – P. e20200652.
201. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2 / L. Chen, X. Li, M. Chen [et al.] // *Cardiovasc Res*. – 2020. – Vol. 116. – № 6. – P. 1097 – 1100.
202. The generation of antibody-secreting plasma cells / S.L. Nutt, P.D. Hodgkin, D.M. Tarlinton [et. al.] // *Nat Rev Immunol*. – 2015. – Vol. 15. – №3. – P. 160 – 171.

203. The immunology and immunopathology of COVID-19 / M. Merad, C.A. Blish, F. Sallusto [et al.] // *Science*. – 2022. – Vol. 375. – №6585. – P. 1122 – 1127.
204. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome / M. Ranucci, A. Ballotta, U.D. Dedda [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2020. – Vol. 18. – №7. – P. 1747 – 1751.
205. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease / D. McGonagle, K. Sharif, A. O'Regan [et al.] // *Autoimmun. Rev.* – 2020. – Vol.19. – P. 102537.
206. The species severe acute respiratory syndrome–related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 / E.G. Alexander, S.C. Baker, R.S. Baric [et al.] // *Nature Microbiology*. – 2020. – Vol. 5. – P. 536 – 544.
207. The Worcester venous thromboembolism study: a population-based study of the clinical epidemiology of venous thromboembolism / F.A. Spencer, C. Emery, D. Lessard [et al.] // *J Gen Intern Med.* – 2006. – Vol. 21. №7. – P. 722 – 727.
208. Thompson, B.T. Acute respiratory distress syndrome / B.T. Thompson, R.C Chambers, K.D. Liu // *N Engl J Med.* – 2017. – Vol. 377. – №6. – P. 562 – 72.
209. Thrombin generation in patients with COVID-19 with and without thromboprophylaxis / E. Campello, C. Bulato, L. Spiezia [et al.] // *Clin Chem Lab Med.* – 2021. – Vol.59. – №7. – P. 1323 – 1330.
210. Thrombodynamics – a new global hemostasis assay for heparin monitoring in patients under the anticoagulant treatment / A.N. Balandina, I.I. Serebriyskiy, A.V. Poletaev [et al.] // *PLoS One*. – 2018. Vol. 13. – №6. – P. e0199900.
211. Thrombocytopeny and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation / X. Gu. Sean., T. Tarun, J. Kanika [et al.] // *Nat Rev Cardiol.* – 2021. – Vol. 18. – №. 3. – P. 194 – 209.
212. Thrombosis in Covid-19 and non-Covid-19 pneumonia: role of platelets / F. Violi, V. Cammisotto, P. Pignatelli [et al.] // *Platelets*. – 2021. – Vol. 32. – №. 8. – P. 1009 - 1017.

213. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison / I. Galani, N. Rovina, V. Lampropoulou [et al.] // *Nat Immunol.* – 2021. – Vol. 22. – №1. – P. 32 – 40.
214. Validation of predictors of disease severity and outcomes in COVID-19 patients: a descriptive and retrospective study / L. Tan, X. Kang, X. Ji [et al.] // *Med.* – 2020. – V.18. – № 1. – P. 128 – 138.
215. VWF excess and ADAMTS-13 deficiency: a unifying pathomechanism linking inflammation to thrombosis in DIC, malaria, and TTP / M. Schwameis, C. Schörghofer, A. Assinger [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 113. – № 4. – P. 708 – 718.
216. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020 // URL: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (дата обращения 14.03.2025)
216. Yamamoto, F. Blood group ABO polymorphism inhibits SARS-CoV-2 infection and affects COVID-19 progression / F. Yamamoto, M. Yamamoto, E. Muñiz-Diaz // *Vox Sanguinis.* – 2021. – Vol. 116 – №1 – P. 15 – 17.
218. Yang, M. Thrombocytopenia in patients with severe acute respiratory syndrome (review) / M. Yang, M. Ng, C.K. Li // *Haematology.* – 2005. – Vol. 10. – № 2. – P. 101 – 105

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение А 1 (справочное)

Патент № 2817000

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 817 000**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 33/86 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/4905 (2023.08); G01N 33/86 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023106075, 14.03.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.03.2023Дата регистрации:
09.04.2024Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 14.03.2023

(45) Опубликовано: 09.04.2024 Бюл. № 10

Адрес для переписки:
191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16,
ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России(72) Автор(ы):
Матвиенко Олеся Юрьевна (RU),
Головина Ольга Георгиевна (RU)(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Российский
научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического
агентства" (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА
России) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: TRIPODI A. Usefulness of Thrombin
Generation. *Hamostaseologic*. 2020, 40(4), p.509-
514. RU 2518247 C2, 10.06.2014. RU 2263914 C1,
10.11.2005. EA 37466 B1, 31.03.2021. US 11366093
B2, 21.06.2022. МАТВИЕНКО О.Ю. и др.
Состояние системы гемостаза у пациентов,
перенесших новую коронавирусную
инфекцию. Эффективность антикоагулянтной
профилактики. (см. прод.)

(54) Способ оценки состояния гемостаза

(57) Реферат:
Изобретение относится к медицине, а именно
к антикоагуляционной терапии, и может быть
использовано для оценки состояния гемостаза.
Проводят определение теста генерации тромбина
в плазме крови. Определяют эндогенный
потенциал тромбина исследуемого образца
плазмы (ETP) в нМ*мин, полученный в
постановке теста генерации тромбина без
добавления тромбомодулина, медиану
эндогенного потенциала тромбина (NETP) в
нМ*мин, вычисленную в результате постановки
теста генерации тромбина без добавления
тромбомодулина в группе здоровых лиц.
Дополнительно определяют процент падения
эндогенного потенциала тромбина исследуемого
образца плазмы (ЧТМ), произошедшего врезультате использования триггерного реагента,
представляющего собой смесь рекомбинантного
человеческого тканевого фактора в концентрации
5 пмоль и отрицательно заряженных
прокоагулянтных фосфолипидов в концентрации
4 мкмоль с добавлением тромбомодулина. На
основании этих определений рассчитывают
индекс коагуляции (ИК) по формуле

$$ИК = \frac{ETP}{NETP \cdot ЧТМ} \times 100\% . \quad \text{При}$$

получении значения ИК менее или равного 2,5
оценивают состояние гемостаза как состояние
гипокоагуляции. При получении значения ИК
более 2,5, оценивают состояние гемостаза как
состояние гиперкоагуляции. Способ обеспечивает

RU 2 817 000 C 1

RU 2 817 000 C 1

Приложение А 2 (справочное)

Патент № 2835545

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 817 000** (13) **C1**(51) МПК
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 33/86 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/4905 (2023.08); *G01N 33/86* (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023106075, 14.03.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.03.2023Дата регистрации:
09.04.2024Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 14.03.2023

(45) Опубликовано: 09.04.2024 Бюл. № 10

Адрес для переписки:
191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16,
ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России

(72) Автор(ы):

Матвиенко Олеся Юрьевна (RU),
Головина Ольга Георгиевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Российский
научно-исследовательский институт
гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического
агентства" (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА
России) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: TRIPODI A. Usefulness of Thrombin
Generation. *Hamostaseologie*. 2020, 40(4), p.509-
514. RU 2518247 C2, 10.06.2014. RU 2263914 C1,
10.11.2005. EA 37466 B1, 31.03.2021. US 11366093
B2, 21.06.2022. МАТВИЕНКО О.Ю. и др.
Состояние системы гемостаза у пациентов,
перенесших новую коронавирусную
инфекцию. Эффективность антикоагулянтной
профилактики. (см. прод.)

(54) Способ оценки состояния гемостаза

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к антикоагуляционной терапии, и может быть использовано для оценки состояния гемостаза. Проводят определение теста генерации тромбина в плазме крови. Определяют эндогенный потенциал тромбина исследуемого образца плазмы (ETP) в нМ*мин, полученный в постановке теста генерации тромбина без добавления тромбомодулина, медиану эндогенного потенциала тромбина (NETP) в нМ*мин, вычисленную в результате постановки теста генерации тромбина без добавления тромбомодулина в группе здоровых лиц. Дополнительно определяют процент падения эндогенного потенциала тромбина исследуемого образца плазмы (ЧТМ), произошедшего в

результате использования триггерного реагента, представляющего собой смесь рекомбинантного человеческого тканевого фактора в концентрации 5 пмоль и отрицательно заряженных прокоагулянтных фосфолипидов в концентрации 4 мкмоль с добавлением тромбомодулина. На основании этих определений рассчитывают индекс коагуляции (ИК) по формуле

$$ИК = \frac{ETP}{NETP \cdot ЧТМ} \times 100\% . \quad \text{При}$$

получении значения ИК менее или равного 2,5 оценивают состояние гемостаза как состояние гипокоагуляции. При получении значения ИК более 2,5, оценивают состояние гемостаза как состояние гиперкоагуляции. Способ обеспечивает

RU 2 817 000 C1

RU 2 817 000 C1