

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России)

Научный консультант

Сидоркевич Сергей Владимирович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Вавилова Татьяна Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой лабораторной медицины с клиникой Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Зозуля Надежда Ивановна – доктор медицинских наук, заведующий клинко-диагностическим отделением гематологии и нарушений гемостаза, врач-гематолог, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Зыбина Наталья Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «_____» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании специализированного совета (шифр Д.208.074.01) при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России» (193024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (www.bloodscience.ru)

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Т.В. Глазанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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.

Распространение новой коронавирусной инфекции, обусловленной вирусом SARS-CoV-2 и вызывающей заболевание COVID-19, быстро приобрело характер пандемии и характеризовалось высокой контагиозностью, разнообразием вариантов клинического течения, развитием несовместимых с жизнью осложнений. На данный момент 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. Коронавирусная инфекция сопровождается развитием цитокинового шторма, массивным повреждением эндотелия, активацией системы гемостаза с экспонированием тканевого фактора (ТФ), взаимодействием нейтрофилов и тромбоцитов, что ассоциируется с увеличением протромботического потенциала крови, нарушением микроциркуляции с развитием респираторного дистресс-синдрома, полиорганной недостаточности, артериальных и венозных тромбозов [Zhu N., 2020; Zaim S., 2020; Xiaolu T., 2020; Askermann M., 2020]. 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, а также ухудшение реологии крови [Hottz E.D., 2020; Violi F., 2021]. Определенный вклад в развитие протромбогенного потенциала вносят микрочастицы (МЧ), которые появляются в кровотоке в результате внутрисосудистой активации клеток [Зубаиров Д.М., 2009]. Общеизвестными факторами риска тромбоза, имеющими 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 [Jenkins V., 2006]. 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 [Краев А.Р., 2023].

Высокая частота тромботических осложнений определяет необходимость назначения пациентам антитромботической профилактики, эффективность которой не всегда соответствует ожиданиям, в связи с тем, что ко всем пациентам применяются стандартные схемы и подходы [Буланов А.Ю., 2020; Oliveira G., 2023]. Выявление нарушений в системе гемостаза, характерных для гиперкоагуляции, у пациентов указанной группы с помощью общепринятых в лабораторной практике коагуляционных тестов, таких как активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновый тест по Квику (ПТ) и концентрация фибриногена (ФГ), не может быть достигнуто в силу их низкой способности к определению протромботических изменений [Галстян Г.М., 2020; Момот А.П., 2006]. В связи с этим представляется важной и актуальной разработка оптимальных 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 профилактики в период выздоровления.

Степень разработанности темы

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 [Кузник Б.И., 2020; Tang N., 2020; Katneni U.K., 2020]. 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 [Работинский С.Е., 2021; Rohlfing A., 2021]. Нарушению эндотелиальной функции посвящено меньшее число исследований, чем особенностям плазменного гемостаза, несмотря на признанную роль эндотелиальной дисфункции как в патогенезе COVID-19, так и в развитии

осложнений заболевания [Bonaventura A., 2021]. Скучно представлены данные об изменениях системы естественных антикоагулянтов, состояние которой играет одну из ключевых ролей в развитии протромботической направленности гемостаза. Актуальным остается вопрос оценки эффективности антикоагулянтной профилактики. Для этих целей основной массой исследователей предлагается использовать определение анти – Ха активности, преимущества которой, по сравнению с оценкой динамики образования тромбина, до сих пор являются предметом дискуссии [Ройтман Е.В., 2020]. Небольшое число исследований посвящено также изменениям клеточного звена гемостаза, в частности активации тромбоцитов и методам ее оценки [Younes Z., 2020; Gu X., 2021]. 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 [Сироткина О.В., 2020]. 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 профилактики 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 объемом проведенных 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. Получено два патента на изобретение.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 279 человек, находящихся в остром периоде COVID-19 или перенесших заболевание. 163 человека (медиана возраста – 69 лет) с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания были обследованы в остром периоде заболевания во время госпитализации. Пациентам назначалась антибактериальная, антикоагулянтная

(низкомолекулярные гепарины – НМГ), гормональная, симптоматическая и инфузионная терапия. Общая частота тромботических осложнений в данной группе составила 12,5%, частота ВТЭО – 3,7%, артериальных тромбозов – 8,8%. У 40 пациентов (25%) было отмечено снижение числа тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$. У 43 пациентов заболевание закончилось летальным исходом, общая летальность составила 26%. Также было обследовано 116 человек, перенесших коронавирусную инфекцию различной степени тяжести. Срок после выписки из стационара и/или клинического выздоровления до момента обследования составлял 1 – 5 месяцев. Группа пациентов, перенесших тяжелую и среднетяжелую формы COVID-19, включала 77 человек (медиана возраста – 59 лет), 56% пациентов получали на момент обследования антикоагулянтные препараты группы прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК), остальные (44%) – антикоагулянтную профилактику в периоде реконвалесценции, но к моменту обследования закончили прием, 31% из них принимал антиагрегантные препараты. Частота тромботических осложнений у пациентов данной группы составляла 21%, частота ВТЭО – 16,8%, артериальных событий – 3,9%. Группа пациентов, перенесших заболевание в легкой форме, включала 39 человек (медиана возраста – 45 лет), тромботических осложнений не было, антикоагулянтные препараты не назначались. Ретроспективная оценка распределения пациентов по группам крови по системе АВО была проведена у 865 человек.

Определение параметров плазменного гемостаза: ПТ, ФГ, АПТВ, активность фактора VIII (FVIII), ристоцетин-кофакторную активность и содержание фактора Виллебранда (vWF и Ag. vWF соответственно), активность протеина С (РС) и антитромбина (АТ), а также содержание свободного протеина S (PS) проводили на автоматических коагулометрах серии ACL: ACL Top 300 CTS и ACL Elite Pro (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, США), все исследования проводили согласно инструкциям производителя к реагентам и оборудованию.

Функциональную активность тромбоцитов определяли методом индуцированной агрегации по Борну на 4-канальном анализаторе АТ-02 (НПФ «Медицина-Техника», Россия). В качестве индукторов использовали коллаген в концентрации 2 мкг/мл, АДФ в концентрациях 1 мкМ и 5 мкМ (CHRONO-LOG Corporation, США). После добавления индукторов проводили запись кривых агрегации и определяли максимальную амплитуду агрегации (МА, %).

Для изучения характеристик МЧ на проточном цитофлуориметре бедную тромбоцитами плазму центрифугировали при температуре 22°C в течение 30 мин при ускорении 14000g, далее аспирировали супернатант и забирали осадок, который ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере. Полученную взвесь МЧ использовали для исследования. Использовали лазерный проточный цитофлуориметр Cytotflex (Beckman Coulter, США) и флуоресцентно меченые антитела к поверхностным маркерам клеток: тромбоцитарные – CD41, лейкоцитарные – CD45, эндотелиальные – CD144 (Exbio Diagnostics, Чехия).

Тест генерации тромбина (ТГТ) методом калиброванной автоматизированной тромбинографии, согласно методике Н. Hemker, выполняли в бедной тромбоцитами плазме без добавления тромбомодулина (ТМ-) и с добавлением такового (ТМ+), в качестве триггера использовали «PRP-Reagent», содержащий ТФ. Добавление ТМ позволяет определить чувствительность к нему (ЧТМ), которая характеризует эффективность антикоагулянтной системы протеина С. Исследование коагуляционной активности МЧ проводили в образцах плазмы свободной от тромбоцитов. Использовали триггерные реагенты: «PRP-reagent» (Thrombinoscope BV, Нидерланды), содержащий рекомбинантный ТФ (1 пМ); «MP-reagent» (Thrombinoscope BV, Нидерланды), содержащий отрицательно заряженные фосфолипиды (ФЛ, 4 мкМ). В ТГТ оценивали значения ЭТП (эндогенный потенциал тромбина, нмоль×мин) и Пик (пиковое количество тромбина, нмоль). Чувствительность к ТМ (ЧТМ) рассчитывали, как процент (%) падения ЭТП и Пик при добавлении ТМ. Для упрощения оценки результатов исследования определяли индекс коагуляции (ИК), который вычисляли по формуле, используя полученные показатели ТГТ:

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

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.

Определение групп крови по системе АВО проводили согласно требованиям нормативных документов 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).

Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Для представления результатов использовали медиану (Me) и межквартильный интервал (Q1-Q3). Для сравнения двух независимых групп использовали непараметрический критерий U-тест Манна-Уитни, трех и более – критерий Краскела-Уоллиса. Для устранения проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони. Для выявления возможной взаимосвязи полученных параметров рассчитывали ранговый коэффициент корреляции Спирмена, для определения тесноты взаимосвязи каких-либо двух признаков – 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 (ф). 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, использовали ROC – анализ с построением ROC-кривых. Критический уровень статистической значимости принимали равным 0,05.

Контрольную группу составили 68 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами, показатели плазменного гемостаза контрольной группы не выходили за пределы референтных интервалов, применяемых в практической работе клинико-диагностической лаборатории учреждения.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

Для выявления изменений состояния плазменного звена гемостаза, характерных для острого течения COVID-19, оценивали показатели, полученные у госпитализированных пациентов до назначения терапии, в сравнении с параметрами здоровых лиц. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – 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

Практически все показатели больных COVID-19 указывали на развитие выраженных изменений, соответствующих состоянию гиперкоагуляции. Так, было выявлено повышение активности FVIII, активности и уровня vWF, увеличение концентрации D-димера. Наибольшие изменения затрагивали уровень D-димера, медиана значений которого в группе пациентов превышала таковую в контрольной группе в 10 раз. Также для больных было характерно значительное повышение концентрации ФГ. Низкие значения ПТ по Квику, выявленные у пациентов с COVID-19, были единственным параметром, который свидетельствовал о возможной гипокоагуляции в острой стадии заболевания, что может быть связано со 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 компонентов системы протеина С (Таблица 2).

Таблица 2 – Активность/уровень естественных антикоагулянтов у больных COVID-19 в остром периоде заболевания и в контрольной группе (Медиана (Q1 – Q3))

Показатели	Пациенты (n=163)	Контрольная группа (n=68)	p
AT, %	94,0 (81,9 – 103,0)	91,0 (85,0 – 99,0)	0,65
PC, %	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 AT и PC у пациентов не отличалась от контрольной группы и оставалась в пределах референтных интервалов, а уровень свободного PS 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 C, характерное для инфекционного процесса [Rezende S.M., 2004].

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 3.

Таблица 3 – Показатели теста генерации тромбина 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

При поступлении в стационар ЭТП (ТМ–) у пациентов с COVID-19 значимо превышал соответствующие параметры контрольной группы, что указывает на

развитие тромбинемии. Наиболее выраженные изменения параметров ТГТ были выявлены при проведении исследования с добавлением ТМ, что сопровождалось резким снижением ЧТМ 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%, ЧТМ Пик у больных COVID-19 была снижена еще более значительно, до 4%, тогда как у здоровых лиц она была выше в 10 раз и составляла 42,1%. Дисбаланс, возникающий при снижении эффективности системы естественных антикоагулянтов, может являться одним из ведущих звеньев развития гиперкоагуляционных изменений у пациентов в остром периоде новой коронавирусной инфекции. ИК, отражающий общий гемостатический баланс в плазменном звене гемостаза, был в 4,6 раза выше у пациентов, чем у здоровых лиц, что однозначно свидетельствует о наличии гиперкоагуляции.

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

Для исследования влияния антикоагулянтных препаратов на параметры системы гемостаза, а также для оценки эффективности антитромботической терапии, 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 (Ме (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
Аг. 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 НМГ. По результатам сравнения 3-х групп пациентов

обнаружена динамика изменений только уровня D-димера, сопровождающаяся снижением его концентрации к 8 – 10 дню наблюдения примерно в 2,5 раза в сравнении с исходными значениями. Проведение апостериорных сравнений показало наличие лишь тенденции к уменьшению уровня D-димера при сравнении групп 2 и 3 ($p=0,053$) и 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 госпитализации.

Изменения активности/уровня естественных антикоагулянтов у пациентов на фоне назначения антитромботической терапии отсутствовали. Активность АТ и протеина С не менялась и оставалась в пределах референтных интервалов, сохранялось падение уровня свободного PS, выявленное при первичном обследовании, что указывало на возможные нарушения работы системы протеина С, характерные для инфекционного процесса [Griffin J.H., 2007, Нернер М., 2013].

Для оценки общего гемостатического потенциала на фоне проводимой антитромботической терапии оценивали параметры генерации тромбина в динамике. Результаты представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Динамика изменений показателей теста генерации тромбина у больных в остром периоде COVID-19 на фоне антитромботической терапии (Ме (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

Анализ полученных данных с применением критерия Краскела-Уоллиса выявил значимые различия между показателями 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. При обследовании на 3 – 5 сутки (группа 2) параметры ТГТ свидетельствовали о сохранении гиперкоагуляции, однако наблюдалось значимое снижение ИК. На 8 – 10 сутки наблюдения, помимо снижения ИК, было выявлено уменьшение Пик и увеличение ЧТМ по сравнению с исходными показателями, 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 назначения НМГ, 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 ЧТМ ассоциируются с падением эффективности антикоагулянтной системы протеина С, что способствует выраженному дисбалансу в системе гемостаза. Выявление перечисленных маркеров гиперкоагуляции сохраняется независимо от назначения препаратов НМГ. 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 и на фоне терапии, наиболее информативным оказался расчётный показатель ИК, определяемый на основе данных ТГТ. ТГТ предоставляет объективную оценку гемостатического потенциала в целом и, учитывая вышеперечисленное, является эффективным инструментом для мониторинга антикоагулянтной терапии у лиц в остром периоде коронавирусной инфекции, в отличие от отдельных показателей коагулограммы.

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

Для тяжелого и среднетяжелого течения COVID-19 характерна высокая летальность. Смертность в группе больных, обследованных в остром периоде заболевания, составила 26%. Оценка параметров системы гемостаза в зависимости от исхода заболевания может быть полезна для выявления прогностической значимости отдельных тестов. Полученные результаты представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – 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
Ag. 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

Для пациентов с неблагоприятным исходом заболевания были характерны гемостатические нарушения, выражающиеся в более значимом снижении ПТ по Квику, а также увеличении активности vWF и уровня D-димера при сравнении с результатами выживших больных. Наиболее глубокие отличия получены при сравнении уровня D-димера, медиана данного показателя была в 4,3 раза выше в группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания. Полученные результаты согласуются с литературными данными, где многочисленные исследователи рассматривают чрезмерное повышение уровня D-димера как неблагоприятный прогностический маркер исхода заболевания [Момот Д.А.; 2023; Воробьева Н.А., 2021; Zhang L., 2020].

Анализ состояния системы естественных антикоагулянтов показал, что только активность АТ была значимо ниже в группе пациентов с летальным исходом в сравнении с выжившими (Me – 85,3%; Q1 – Q3: 71,0 – 97,5%, против Me – 97,7% нг/мл; Q1 – Q3: 84,3% – 105,0%, p=0,034). Снижение активности АТ 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.

У выживших и умерших пациентов не было выявлено значимых различий показателей ТГТ в зависимости от исхода заболевания.

В связи с наличием значимых различий между выжившими и умершими пациентами по отдельным гемостатическим показателям, провели анализ взаимосвязи данных изменений и исхода заболевания с помощью четырехпольных таблиц сопряженности. Оценка связи показателей ПТ по Квику и активности АТ с летальностью обнаружила, что для ПТ по Квику критерий χ^2 и точный критерий Фишера (ϕ) составляет 4,46 (p=0,035) и 0,03518 (p<0,05) соответственно, а коэффициент Пирсона (C) – 0,236; для АТ $\chi^2=8,467$ (p=0,004), $\phi=0,114$ (p<0,05), C=0,319. 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 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.

При оценке показателей плазменного гемостаза, связанных с неблагоприятным исходом заболевания, с помощью ROC – анализа, была получена модель хорошего качества для уровня D-димера и ПТ по Квику (AUC составила 0,787 и 0,747 соответственно), что позволило определить пороговые значения данных показателей, связанных с летальным исходом. Для уровня D-димера пороговое значение составило 800 нг/мл (чувствительность 72% и специфичность 75,2%) (Рисунок 1).

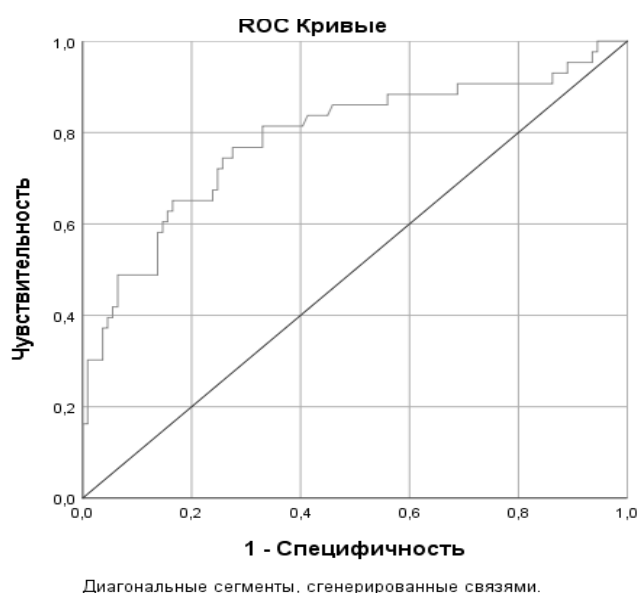


Рисунок 1 – ROC-кривые для параметра D-димер

Для показателя ПТ по Квику пороговое значение составило 70% (чувствительность 70% и специфичность 74,3%) (Рисунок 2).

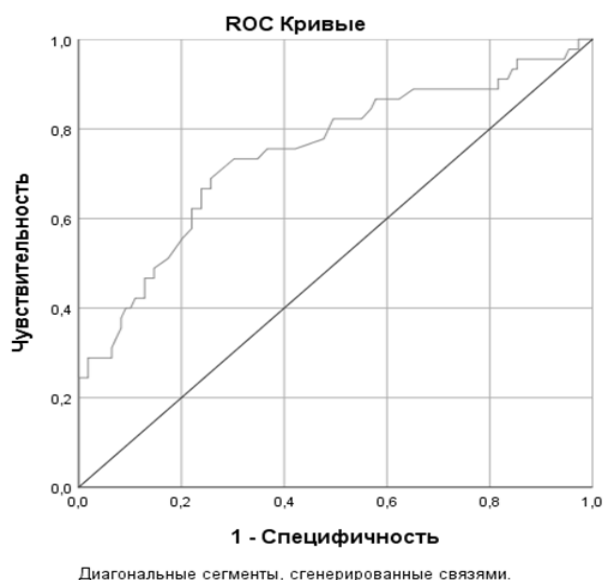


Рисунок 2 – ROC-кривые для параметра ПТ по Квику

Полученные результаты ROC – анализа 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 параметров гемостаза и тяжести течения заболевания проводился корреляционный анализ результатов балльной оценки тяжести состояния пациентов по шкале «раннего предупреждения» NEWS (англ. National Early Warning Score, NEWS) и 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 ($r=0,335701$, $p<0,05$).

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.

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, отмечалась умеренная тромбоцитопения, была проведена оценка параметров плазменного гемостаза у больных с числом тромбоцитов менее $150 \times 10^9/л$

(группа 1) относительно тех, у кого их количество оставалось в пределах нормальных значений (группа 2). Полученные результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Показатели, характеризующие плазменное звено гемостаза у пациентов в остром периоде COVID-19, в зависимости от наличия тромбоцитопении (Me (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

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.

Анализ параметров системы естественных антикоагулянтов свидетельствовал об отсутствии значимых различий по уровню PS, активности АТ и протеина С между двумя группами пациентов. Также не было выявлено достоверных различий и по показателям ТГТ.

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 (ЭД), ассоциированной с потерей атромбогенных свойств сосудистой стенки. Можно предположить, что именно высокая активность vWF является одной из причин повышенного потребления тромбоцитов и развития тромбоцитопении. Определение влияния тромбоцитопении на летальный исход заболевания 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. 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 наличия тромбоцитопении, позволяют расценивать снижение количества тромбоцитов

как неблагоприятный прогностический фактор у пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19.

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

МЧ плазмы крови, происходящие из клеток крови и эндотелия, оказывают влияние на функционирование системы гемостаза за счет локализованных на их поверхности отрицательно заряженных ФЛ и ТФ, что, вероятно, имеет значение в процессе развития тромботических осложнений при различной патологии [Зубаиров Д.М., 2009; Зубаирова Л.Д., 2013]. В связи с этим было проведено исследование характеристик МЧ в группе пациентов, находящихся в остром периоде COVID-19. Результаты, полученные при сравнении параметров обследованных пациентов с одноименными показателями группы контроля, представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – 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

Значение Me CD41+ (% событий), характеризующее количество тромбоцитарных МЧ у больных COVID-19, в 25 раз превышало данный параметр контрольной группы. Количество же лейкоцитарных и эндотелиальных МЧ у пациентов не отличалось от показателей контрольной группы. На Рисунке 3 представлены данные относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента М., находящегося в остром периоде COVID-19, и представителя контрольной группы.

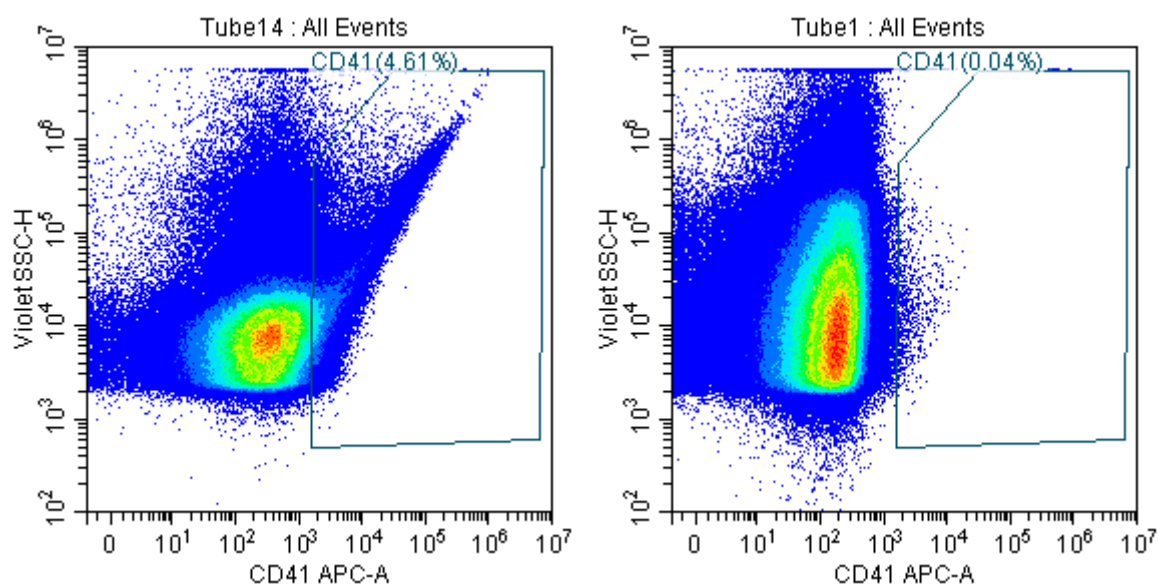


Рисунок 3 – Тромбоцитарные МЧ у больного COVID-19 и представителя контрольной группы

У 9 пациентов (38%) заболевание закончилось летальным исходом. В связи с этим также был произведен анализ характеристик МЧ в зависимости от исхода заболевания. Полученные результаты представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – 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 (1,38 – 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.

У больных с неблагоприятным исходом заболевания, в сравнении в выжившими пациентами, количество тромбоцитарных МЧ было значимо выше. В связи с этим был проведен ROC – анализ с целью определения порогового значения, связанного с неблагоприятным исходом заболевания. В результате была получена модель хорошего качества (AUC – 0,798) и определена пороговая точка – 3,22 (чувствительность 77,8% и специфичность 72,7%) (Рисунок 4).

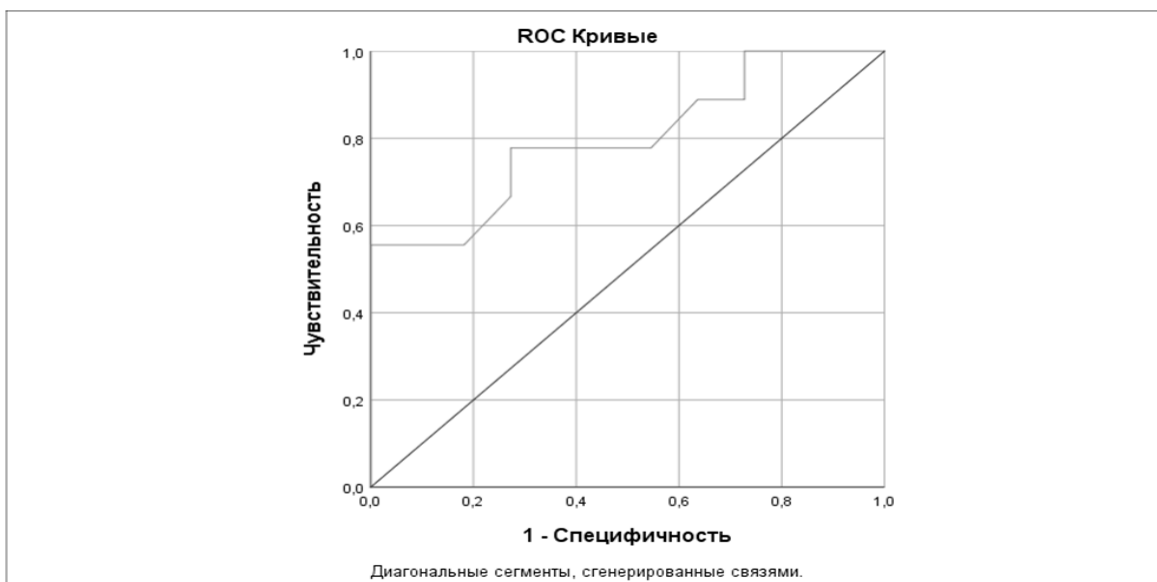


Рисунок 4 – ROC-кривые для числа тромбоцитарных МЧ (% событий)

Результаты проведенного ROC – анализа позволяют рассматривать повышение числа тромбоцитарных МЧ более 3,22 (% событий) в качестве неблагоприятного маркера, указывающего на возможность летального исхода COVID-19.

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.

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 ЭД, которая является важным патогенетическим механизмом нарушений системы гемостаза при данном заболевании.

У обследованных пациентов с острым течением COVID-19, в сравнении со здоровыми лицами, выявлено значимое повышение уровня vWF, общепризнанного маркера ЭД (Me – 224,5%; Q1 – Q3: 199,5 – 452,2% против Me – 107,0%; Q1 – Q3: 91,0 – 134,5%, $p < 0,05$ соответственно), что однозначно свидетельствует о наличии выраженных изменений эндотелия.

Определенные параметры ТГТ также могут быть использованы для оценки ЭД. Добавление ТМ в реакционную смесь при постановке ТГТ имитирует влияние эндотелия сосудистой стенки на параметры генерации тромбина.

Снижение ЧТМ свидетельствует не только о нарушениях в системе протеина С, но и о наличии изменений функции эндотелия. У обследованных нами пациентов было выявлено резкое снижение ЧТМ 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%, $p < 0,000001$ соответственно), что указывает на угнетение работы системы протеина С, непосредственно связанной с развитием ЭД.

Одним из косвенных показателей, характеризующих состояние эндотелия сосудов, является уровень ГЦ в плазме крови. У больных COVID-19 в остром периоде заболевания отмечены высокие значения уровня ГЦ, которые составили: Ме – 17,47; Q1 – Q3: 13,7 – 21,9 мкмоль/л, 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. Значительное повышение концентрации ГЦ, 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 как отдельные маркеры гиперкоагуляции, так и показатели ТГТ. Снижение уровня свободного PS и 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 ЭД, наличие которой на фоне коронавирусной инфекции подтверждается повышением уровня vWF, ГЦ, снижением ЧТМ. Прогностическими маркерами неблагоприятного течения и/или исхода заболевания может служить изменение таких показателей, как уровень D-димера, ПТ по Квику, активность АТ, активность и содержание vWF. Наличие у пациентов тромбоцитопении также имеет взаимосвязь с развитием летального исхода 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. 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.

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.

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 было показано наличие у пациентов тромбоцитопении, которая ассоциируется с более выраженными нарушениями плазменного звена гемостаза, а также более тяжелым течением заболевания и летальным исходом. Учитывая значимость выявленных изменений, была проведена оценка тромбоцитарного гемостаза у лиц, перенесших COVID-19. Среди обследованных пациентов не было выявлено случаев тромбоцитопении. Для оценки качественных характеристик тромбоцитов проводили исследование агрегации тромбоцитов с различными агонистами. Пациенты были разделены на группы в зависимости от тяжести течения перенесенной новой коронавирусной инфекции.

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

Результаты пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести, и лиц, составляющих контрольную группу, представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Показатели максимальной агрегации тромбоцитов у пациентов, перенёсших 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 группами получено не было. Это свидетельствует о том, что у 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.

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

В связи с тем, что часть обследованных лиц находилась на антиагрегантной терапии и получала препараты АСК для профилактики ССО, оценка активности тромбоцитов проводилась в зависимости от приема данных препаратов. Полученные параметры представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – 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

Представленные результаты свидетельствуют о высокой степени активации тромбоцитов после перенесенного заболевания у тех пациентов, которые не получали антиагрегантную терапию. 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, что является закономерным и отражает эффективность проводимой профилактики.

Таким образом, агрегационная способность тромбоцитов у пациентов, перенесших COVID-19 и не получающих 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.

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 13.

Таблица 13 – Показатели коагулограммы пациентов, перенёвших 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
Аг. 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 перенесённой коронавирусной инфекции, у обследованных пациентов отмечалось снижение иАПТВ, повышение ПТ, активности FVIII, содержания vWF, тенденция к увеличению концентрации ФГ и уровня D-димера относительно значений контрольной группы. Однако у основной части обследованных пациентов большинство показателей, несмотря на значимые отличия от параметров здоровых лиц, не выходили за границы референтных интервалов, за исключением уровня vWF, который у половины пациентов превышал верхнюю границу нормы и свидетельствовал о наличии

значимых нарушений эндотелия, сохраняющихся даже после заболевания, перенесенного в легкой форме.

Анализ показателей, характеризующих состояние системы естественных антикоагулянтов, показал, что у пациентов имеет место значимое, относительно контрольной группы, повышение активности АТ (Ме – 118%; Q1 – Q3: 109,3 – 120,5%, против Ме – 94%; Q1 – Q3: 81,5 – 105,5%, $p=0,007$), что может свидетельствовать о протективном значении данных изменений у перенесших заболевание в легкой форме. Активность РС 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 14).

Таблица 14 – Показатели теста генерации тромбина у пациентов, перенёсших COVID-19 в легкой форме, в сравнении с контрольной группой (Ме (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

Представленные результаты свидетельствуют о значимом снижении ЧТМ у пациентов, перенесших COVID-19, 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.

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 15–17.

Таблица 15 – 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 были выявлены только по показателям иАПТВ и ПТ, что может отражать влияние принимаемых антикоагулянтов. В каждой обследованной группе обнаружены повышенные, относительно показателей здоровых лиц, значения концентрации ФГ, активности FVIII, активности и содержания vWF, что указывает на наличие прокоагулянтных

изменений и ЭД независимо от получаемой антитромботической терапии. 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.

При оценке параметров, характеризующих работу системы естественных антикоагулянтов, 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.

Полученные 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 16).

Таблица 16 – Показатели теста генерации тромбина у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, в зависимости от приёма ПОАК (Me (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, принимавших ПОАК, имело место снижение количественных показателей генерации тромбина (ЭТП и Пик) не только по сравнению со значениями пациентов, не получавших 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 получавших 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 выраженного в группе пациентов, не получающих антикоагулянты. 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 у пациентов, не получавших ПОАК, было выше одноименных параметров как на фоне приёма препаратов, так и в контрольной группе, 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, 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, ЧТМ по показателю ЭТП у пациентов, обследованных через один месяц, составляла: Ме – 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: Ме – 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 перенесённого заболевания (один месяц против трех – пяти месяцев): Ме – 1,8; Q1 – Q3: 1,1 – 2,8 против Ме – 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 получавших 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 ПОАК и оказался более информативным методом мониторинга эффективности антитромботической профилактики у пациентов, перенесших COVID-19, в сравнении с показателями коагулограммы.

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 тромботические осложнения. Для оценки особенностей состояния системы гемостаза пациенты были разделены на две группы по наличию тромботических осложнений. Антикоагулянтные препараты принимали больные обеих групп. Показатели, полученные при исследовании плазменного гемостаза в зависимости от наличия тромботических осложнений, представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – 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
Ag. 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

Представленные данные свидетельствуют о том, что 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 Ag. 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 ПОАК 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 18.

Таблица 18 – 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
AT, %	105,5* (94,0 – 112,0)	106,0* (101,5 – 113,5)	94,0 (81,5 – 105,5)	0,764
PC, %	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 AT и PC в сравнении с контролем, несмотря на это активность AT у большинства пациентов находилась пределах референтного интервала. Уровень же свободного PS был повышен только у пациентов без 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.

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.

Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию

В настоящее время известно, что ЭД играет важнейшую роль в патогенезе нарушений гемостаза. Выраженная ЭД, 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 ЭД после выздоровления. В Таблице 19 приведены результаты определения тех показателей, по изменению которых можно судить о наличии ЭД.

Таблица 19 – Показатели, характеризующие состояние эндотелия у пациентов, перенёсших COVID-19 в лёгкой или тяжелой и среднетяжелой форме (Me (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

Из представленных данных следует, что только содержание vWF значительно различается между пациентами, перенесшими COVID-19 разной степени тяжести. ЧТМ по показателю ЭТП у пациентов после тяжело перенесенного заболевания почти достигает референтных параметров. 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 после перенесенного в тяжелой или среднетяжелой форме заболевания, но не получают в случае легкого течения. ЧТМ по показателю Пик свидетельствует о выраженном нарушении функции эндотелия независимо от степени тяжести перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Микрочастицы плазмы крови у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию

Активация системы свёртывания крови в остром периоде COVID-19 обусловлена наличием выраженной ЭД, активацией тромбоцитов и плазменного звена гемостаза, развитием межклеточных взаимодействий, что сопровождается образованием МЧ. Сохранность активации системы гемостаза после перенесённого заболевания независимо от тяжести предполагает генерацию МЧ, которые оказывают влияние на гемостатический потенциал плазмы крови за счёт прокоагулянтных ФЛ и ТФ. 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.

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

Результаты, полученные при исследовании количества и происхождения МЧ плазмы крови пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, представлены в Таблице 20.

Таблица 20 – Характеристика МЧ у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, и здоровых лиц (Me (Q1 – Q3))

Клеточный маркер	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

Представленные данные свидетельствуют о значимом повышении количества МЧ тромбоцитарного происхождения у обследованных пациентов. Число МЧ лейкоцитарного и эндотелиального происхождения значимо не различалось между пациентами и здоровыми лицами. На Рисунке 5 представлены данные относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента Н., перенесшего COVID-19 в легкой форме, и представителя контрольной группы.

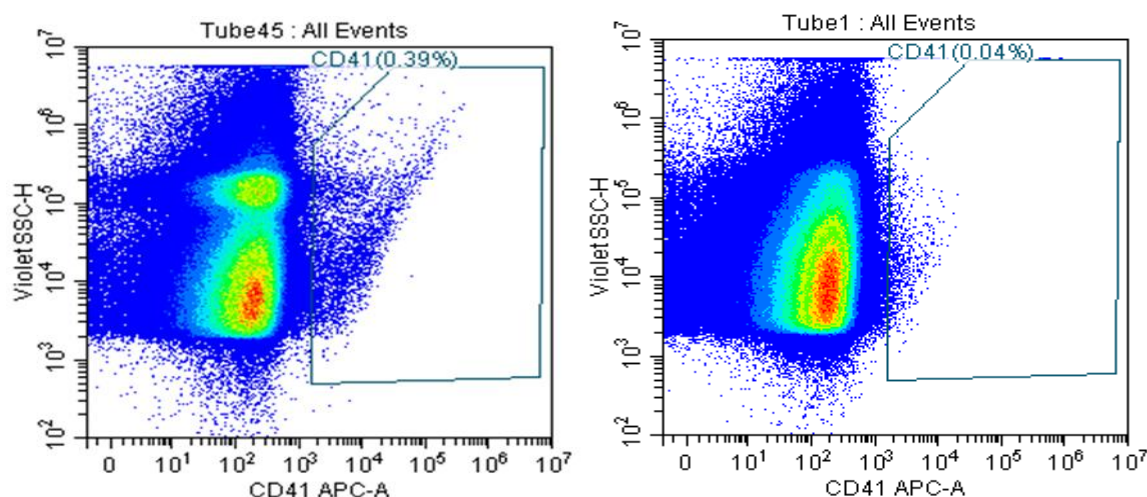


Рисунок 5 – Тромбоцитарные МЧ у больного, перенесшего COVID-19, и представителя контрольной группы

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

ТГТ позволяет определять динамику генерации тромбина, зависимую или от ТФ, или от прокагулянтных ФЛ, локализованных на поверхности МЧ. С этой целью используют различные триггерные реагенты, которые включают отрицательно заряженные ФЛ («MP-Reagent») или рекомбинантный ТФ («PRP-Reagent»). Параметры, полученные при исследовании функциональной активности МЧ пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, с помощью ТГТ, представлены в Таблице 21.

Таблица 21 – 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 – 918,6,0)	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

Результаты пациентов, перенесших COVID-19 легкой степени тяжести, свидетельствуют о значимом повышении генерации тромбина, обусловленной МЧ, по всем параметрам, что свидетельствует об активном их участии в реакциях гемостаза и тромбоза. При этом именно ТФ, локализованный на МЧ, 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 ФЛ в коагуляционном процессе ($r=0,651$, $p=0,029$).

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 22.

Таблица 22 – 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

Из представленных данных следует, что количество МЧ тромбоцитарного происхождения у пациентов 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 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 6 представлены данные относительно количества тромбоцитарных МЧ у пациента Р., перенесшего COVID-19 в тяжелой форме, и представителя контрольной группы.

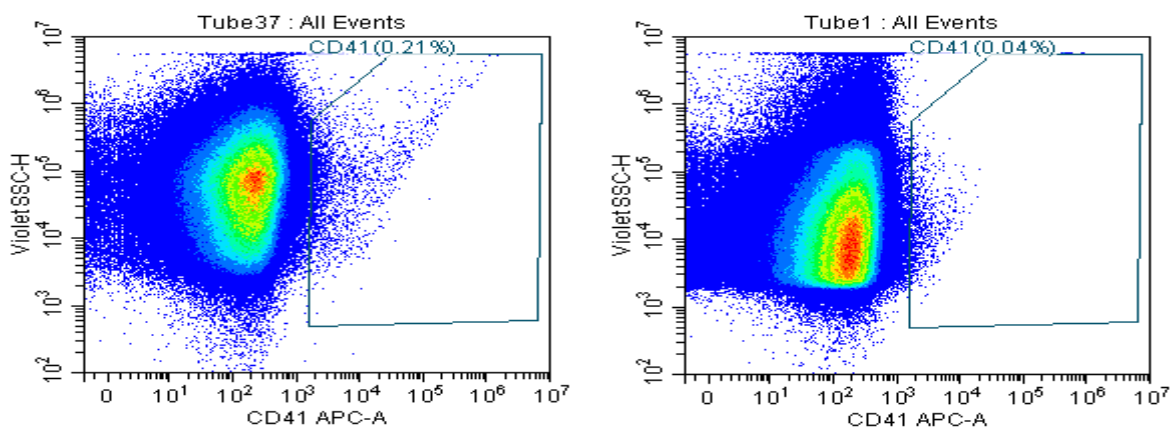


Рисунок 6 – Тромбоцитарные МЧ у больного, перенесшего COVID-19 в тяжелой форме, и представителя контрольной группы.

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 23.

Таблица 23 – 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 (8,5 – 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 не было выявлено столь значимых отличий от контрольной группы, как у лиц с легким течением заболевания. Так, при использовании реактива «PRP-Reagent» было обнаружено значимое снижение скорости генерации тромбина, а при использовании реактива «MP-Reagent» – повышение ЭТП в группе пациентов при сравнении с группой контроля. Отсутствие значительного повышения функциональной активности МЧ у пациентов, перенесших COVID-19 в тяжелой и среднетяжелой форме, вероятно, 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.

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, в сравнении с соответствующими данными по общей популяции жителей РФ, свидетельствуют о том, что распределение пациентов сходно с таковым в общей популяции, в которой, как и среди заболевших COVID-19, преобладают представители группы крови А(II) [Каландаров Р.С., 2012]. На основании полученных результатов можно заключить, что на восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 принадлежность к той или иной группе крови не оказывает влияния.

Результаты распределения группы крови АВО у пациентов с различной тяжестью новой коронавирусной инфекции представлены в Таблице 24.

Таблица 24 – Распределение групп крови АВО у пациентов, перенесших COVID-19, в зависимости от тяжести течения заболевания

АВО	Легкое течение		Среднетяжелое и тяжелое	
	n	%	n	%
О(I)	160	36,0	114	27,1
А(II)	140	31,5	179	42,5
В(III)	106	23,9	86	20,4
АВ(IV)	38	8,6	42	10
Всего	444	100	421	100

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

Известно, что представители различных групп крови могут иметь отличия по ряду показателей, характеризующих плазменное звено гемостаза. Так, у представителей группы О(I) значения активности и/или содержания FVIII и vWF не достигают таковых у лиц с группой крови, отличающейся от О(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 у ряда лиц, перенесших COVID-19, с различной групповой принадлежностью крови. Пациенты были разделены в зависимости от группы крови по системе АВО и тяжести перенесённой инфекции. Данное исследование плазменного звена гемостаза позволило выявить взаимосвязь между групповой принадлежностью крови и степенью активации системы свертывания у заболевших COVID-19: наличие первой группы крови ассоциировалось с менее значимой степенью

активации системы гемостаза, связанной с более низкой активностью FVIII и vWF, что, вероятно, может иметь протективное значение для развития ВТЭО при новой коронавирусной инфекции.

Алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза у пациентов с COVID-19

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 антикоагулянтной терапии, предложен алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза, представленный на Рисунке 7. 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 антикоагулянтной профилактики 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.

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 8. В данном 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 недостаточной эффективности применяемых препаратов у пациентов, перенёвших коронавирусную инфекцию. Использование данного алгоритма может быть полезным для оптимизации антитромботической терапии и снижения частоты развития осложнений после перенесенного заболевания.

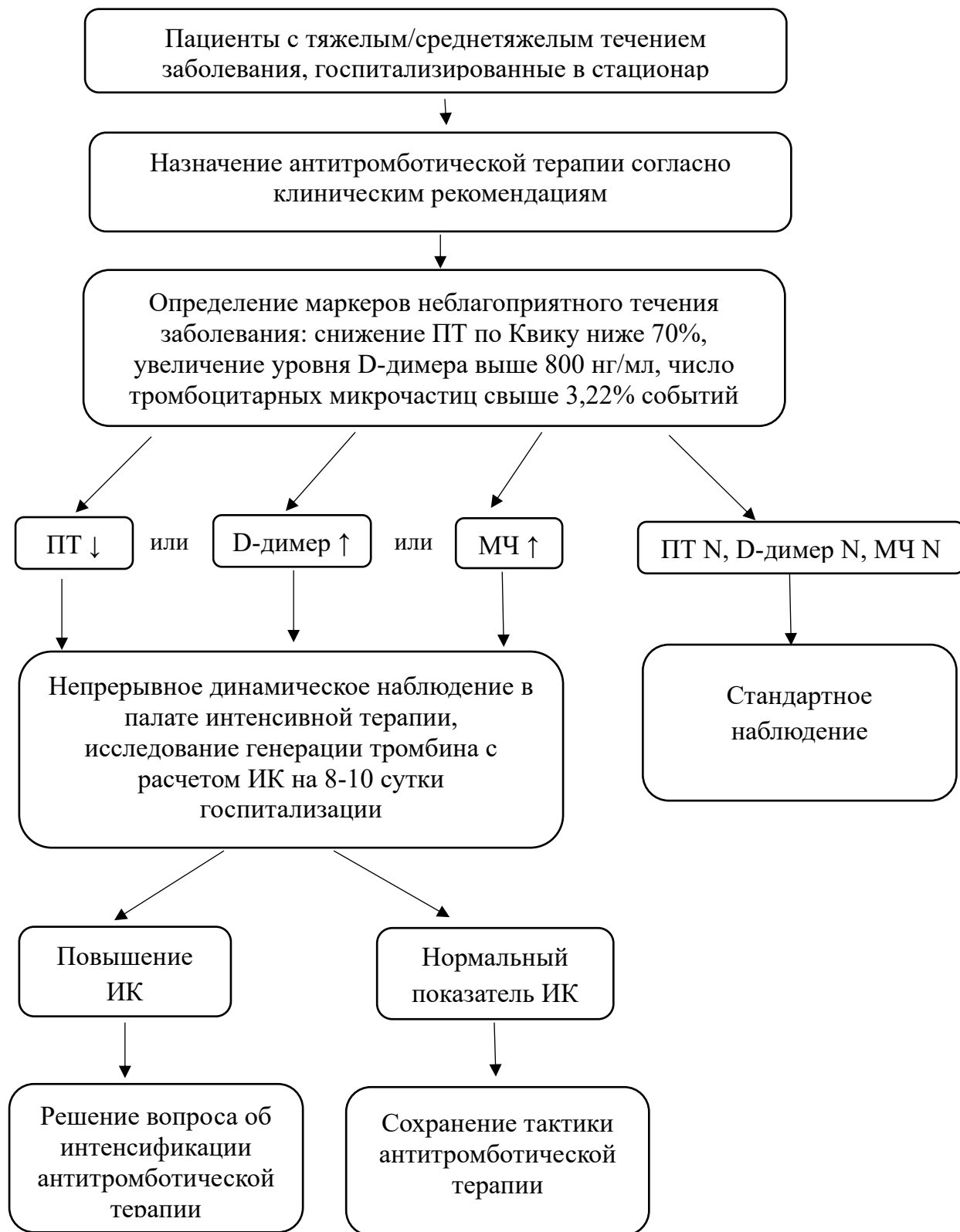


Рисунок 7 – Алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза в остром периоде COVID-19

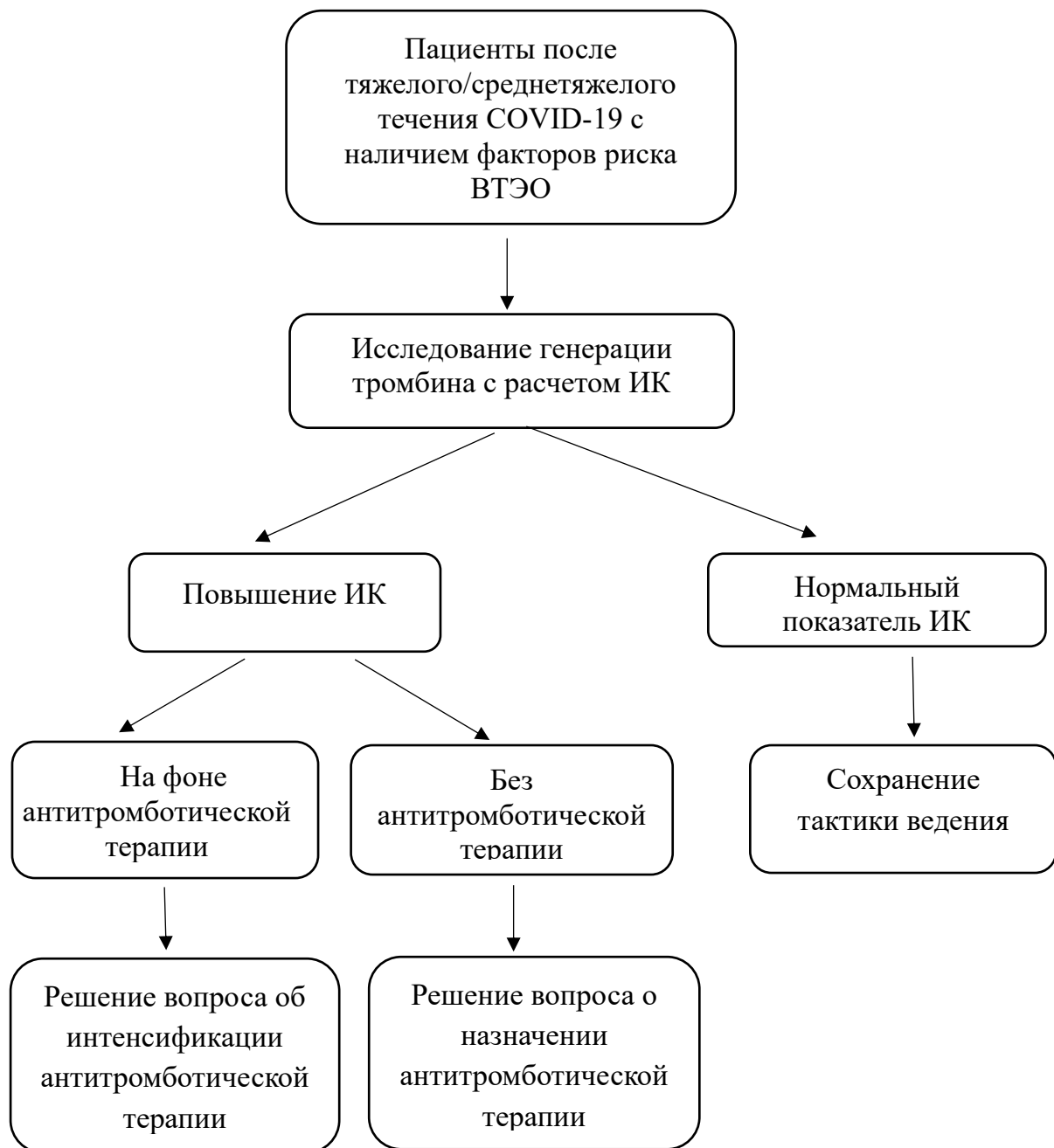


Рисунок 8 – Алгоритм лабораторного исследования системы гемостаза после перенесенного COVID-19

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 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 A(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 с 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 НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

1. Состояние плазменного звена гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 / О.Ю. Матвиенко, Н.Е. Корсакова, А.А. Лернер, Г.Н. Шведова, Л.П. Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2020. — №4. — С. 52 – 56.
2. Тромбоцитопения, ассоциированная с острым течением коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, Л.П. Папаян, С.В. Сидоркевич // Трансфузиология. – 2022. – Т. 23. – № 2. – С. 129 – 136.

3. Состояние системы гемостаза у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию. Эффективность антикоагулянтной профилактики / О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, О.А. Смирнова, О.Г. Головина, Л.П. Папаян // Бюллетень медицинской науки. – 2022. – №3. – Т. 27. – С. 30 – 36.
4. Влияние антикоагулянтной профилактики на активацию системы гемостаза в остром периоде коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, Л.П. Папаян, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, А.А. Лернер // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – №3. – С. 55 – 61.
5. Активация тромбоцитов после перенесенной новой коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, Л.Р. Тарковская, Т.В. Морозова, С.В. Сидоркевич // Бюллетень медицинской науки. – 2023. – №1 (29). – С. 31 – 36.
6. Влияние группы крови АВО на состояние системы гемостаза у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию / О. Ю. Матвиенко, О. Г. Головина, И. И. Кробинец, Н. Н. Бодрова, С. В. Сидоркевич // Трансфузиология – 2023. – №2. – С. 136 – 142.
7. Матвиенко, О.Ю. Состояние системы гемостаза у больных, перенесших новую коронавирусную инфекцию легкой степени тяжести / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина // Гематология и трансфузиология. – 2023. – № 68. – Т. 3. – 390 – 397.
8. Кобилянская, В.А. Антифосфолипидные антитела у пациентов с новой коронавирусной инфекцией / В.А. Кобилянская, О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина // Бюллетень медицинской науки. – 2024. – Т. 33. – № 1. – С. 115 – 120.
9. Матвиенко, О.Ю. Роль микрочастиц плазмы крови в развитии прокоагулянтных изменений у пациентов, перенесших COVID-19 / О.Ю. Матвиенко, О.А.Смирнова, О.Г. Головина // Тромбоз, гемостаз и реология – 2024. – №2. – С. 48 – 53.
10. Матвиенко, О.Ю. Ассоциация групп крови АВО с восприимчивостью и течением инфекции, вызванной вирусом SARS-COV-2 / И.И. Кробинец, О.Ю. Матвиенко // Трансфузиология. – 2024. – Т.25. – №1. – С. 23 – 29.
11. Микрочастицы плазмы крови у пациентов, перенесших COVID-19 / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, О.А. Смирнова, Н.Н. Силина // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2025. – Т.11 – № 1. – С. 19 – 26.

Публикации в других изданиях и материалах конференций

1. Оценка состояния системы гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией с помощью теста генерации тромбина / О. Ю. Матвиенко, О.А. Смирнова, А.А. Лернер, Т.Н. Шведова, О.Г. Головина, Л.П. Папаян // Бюллетень медицинской науки. – 2021. – №2. – Т. 22. – С. 95 – 98.
2. Circulating biologic markers of endothelial dysfunction in COVID-19 patients [abstract]. / O. Matvienko, N. Korsakova, O. Smirnova, A. Lerner, T. Shvedova, L. Papayan, O. Golovina. // Res Pract Thromb Haemost. 2021; 5 (Suppl 1). <https://abstracts.isth.org/abstract/circulating-biologic-markers-of-endothelial-dysfunction-in-covid-19-patients/>. Accessed July 14, 2021.
3. Efficiency of anticoagulant protein C system in patients with coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 [abstract]. / O. Matvienko, N. Korsakova, A. Lerner, T. Shvedova, L. Papayan, O. Golovina / Res Pract Thromb Haemost. 2021; 5 (Suppl 1). <https://abstracts.isth.org/abstract/efficiency-of-anticoagulant-protein-c-system-in-patients-with-coronavirus-infection-caused-by-the-sars-cov-2/>. Accessed July 14, 2021.
4. Изменения в системе гемостаза в разные периоды течения коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, Л.П. Папаян / Вестник гематологии. – 2022. – Т. XVIII. – №1. – С. 46 – 47.
5. Прогностическое значение некоторых показателей системы гемостаза для течения новой коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, О.А. Смирнова, Н.Е. Корсакова, В.А. Кобилянская, О.Г. Головина / Вестник гематологии. – 2023. – Т. XIX. – №3. – С. 18 – 21.
6. Матвиенко, О.Ю. Влияние антикоагулянтной профилактики на генерацию тромбина, ассоциированную с микрочастицами плазмы крови, у пациентов, перенесших COVID-19 / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина // Сборник материалов XXVIII Всероссийской научно-практической конференции «Научно-практические технологии для клинической медицины», 20 – 22 марта 2023 г. – г. Москва. – С. 117 – 118.
7. Прогностическое значение микрочастиц плазмы крови для определения неблагоприятного исхода новой коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, Н. Н Силина, О.Г. Головина, О.А. Смирнова // Сборник материалов Научно-практической конференции в

рамках IX Российского Конгресса лабораторной медицины, 04 – 06 октября 2023г, г. Москва. – С. 28 – 29.

8. Система гемостаза после перенесенной коронавирусной инфекции / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, Л.Р. Тарковская, Т.В. Морозова // Трансфузиология / Материалы Научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и трансфузиологии» – 28 – 29 марта 2024 г. – СПб – С. 77 – 78.

9. Матвиенко, О.Ю. Клинические проявления коагулопатии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Подходы к профилактике и лечению (обзор литературы) / О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина // Вестник гематологии. – 2025. – Т. XXI. – №1. – С. – 29-35.

10. Кобилянская, В.А. Антифосфолипидные антитела волчаночного типа у пациентов, перенесших COVID-19. // В.А. Кобилянская, О.Ю. Матвиенко, Т.В. Морозова / Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (20-21 июня 2024 года, Санкт-Петербург). – Вестник гематологии. – 2024. – Т. XX. – № 2. – С. 56 – 57.

11. Матвиенко, О.Ю. Ассоциация групп крови АВО с восприимчивостью и течением инфекции, вызванной вирусом SARS-COV-2 / О.Ю. Матвиенко, И.И. Кробинец, Н.Н. Бодрова // Трансфузиология / Материалы Научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и трансфузиологии», 28 – 29 марта 2024 г. – СПб – С. 79 – 80.

12. Функциональная активность тромбоцитов у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в легкой форме / О.Ю. Матвиенко, Л.Р. Тарковская, Т.В. Морозова, О.Г. Головина // Трансфузиология / Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», 20 – 21 июня 2024 г. – СПб.

13. Ассоциация группы крови АВ0 с изменениями системы гемостаза у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию // Матвиенко О.Ю., Головина О.Г., Кробинец И.И., Бодрова Н.Н. /Трансфузиология / Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», СПб, 20-21 июня 2024 года.

14. Correlation of coagulation parameters with prognosis of COVID-19 / O. Smirnova, O. Matvienko, N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina // Abstract on ISTH Congress 2024, June 22 - 26, Bangkok, Thailand.

15. Microparticle-associated thrombin generation in patients after COVID-19/ O. Matvienko, N. Korsakova, O. Smirnova, N. Silina, O. Golovina// Hemosphere. 2023;7(Suppl): e66560fe.

16. Thrombin generation in acute period of COVID-19 / O. Matvienko, N. Korsakova, O. Smirnova, N. Silina, O. Golovina // Abstract on ISTH Congress 2024, June 22 – 26, Bangkok, Thailand.

17. Prognostic value of blood plasma microparticles for the outcomes of coronavirus infection / O. Matvienko, O. Smirnova, N. Silina, O. Golovina // Abstract on ISTH Congress 2024, June 22 – 26, Bangkok, Thailand.

18. Матвиенко, О.Ю. Определение предикторов неблагоприятного исхода заболевания у пациентов с COVID-19 на основании исследования системы гемостаза / О.Ю. Матвиенко, О.А. Смирнова, О.Г. Головина // Медицина экстремальных ситуаций. – 2025. – Т.27 – № 4. – С. 587 – 593.

19. 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».

20. 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».

Список сокращений

Аг. vWF – антиген (уровень) фактора Виллебранда
АСК – ацетилсалициловая кислота
АТ – антитромбин
ВТЭО – венозные тромбозэмболические осложнения
ГЦ – гомоцистеин
иАПТВ – индекс активированного парциального тромбопластинового времени
ИК – индекс коагуляции
МА – максимальная амплитуда агрегации
Ме – медиана
МЧ – микрочастицы
НМГ – низкомолекулярный гепарин
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 – тромбоз эмболия легочной артерии
ФГ – фибриноген
ФЛ – отрицательно заряженные фосфолипиды
ЧТМ – чувствительность к тромбомодулину
ЭД – эндотелиальная дисфункция
ЭТП – эндогенный потенциал тромбина
FVIII – коагуляционный фактор VIII
РС – протеин С
PS – протеин S
Q1-Q3 – интерквартильный интервал
vWF – фактор Виллебранда