

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 И МОНИТОРИНГ МАРКЕРОВ КОАГУЛЯЦИИ.

Мельник А.А., к.б.н.

К настоящему времени подтверждена связь между инфекциями и нарушением системы гемостаза (1). Так, в частности, бактериальные инфекции, вызванные грамотрицательными микроорганизмами, способны активировать систему свертывания путем высвобождения тканевого фактора, с последующей активацией внешнего пути и индуцировать активацию тромбина клеточной стенкой бактерий (2). Ранняя фаза бактериальной инфекции приводит к состоянию гиперкоагуляции, которая характеризуется увеличением уровня D-димера и может привести к ДВС-синдрому (3). С другой стороны, вирусные инфекции также могут вызвать такие серьезные осложнения как острый респираторный дистресс синдром (ОРДС) и полиорганную недостаточность (ПОН), являющимися состояниями, связанными с гиперкоагуляцией (4). Появление нового вируса под названием SARS-CoV-2 в конце декабря 2019 г. привело к пандемии в мире (5). Болезнь, которую вызывает данный вирус или COVID-19, затронула более 10 миллионов человек и по состоянию на конец июня 2020 года умерло около 500 000 человек. Заболевание проявляется от бессимптомного или легкого течения до тяжелой формы с полиорганной недостаточностью и летальным исходом (6-8).

Коагулопатия в форме венозной и артериальной тромбоэмболии является одним из самых тяжелых последствий заболевания с неблагоприятным прогнозом (9-12). Несмотря на применение в профилактических и терапевтических целях антикоагулянтов, остается повышенным риск тромбоза, что может свидетельствовать о специфических патофизиологических механизмах нарушения гемостаза при COVID-19 (13,14). У пациентов с тяжелой формой COVID-19 (5-10%) развивается не только гипоксия и чрезмерное воспаление, но и частые тромботические проявления, такие как ТЭЛА (тромбоэмболия легочной артерии) в 20-30% случаев, ТГВ (тромбоз глубоких вен), катетер-связанный и артериальный тромбоз, ишемический инсульт (15-18). Кроме этого наблюдается микрососудистый тромбоз, акросиндром, синдром капиллярной утечки с поражением легких, почек и сердца, что приводит к полиорганной недостаточности.

На рисунке 1 схематически представлена легочная внутрисосудистая коагулопатия при COVID-19. Провоспалительные и прокоагулянтные агенты получают доступ к капиллярной сети (нижний круг). Низкое давление сосудистой системы и тонких стенок сосудов в проксимальном направлении к альвеолярной сети запускает иммунотромбоз с помощью различных механизмов, таких как локальное повышение провоспалительных цитокинов, повреждение ткани стенки сосуда с продукцированием тканевого фактора и прямое повреждение мелких сосудов. Усиленная фибринолитическая активность (обнаруживается на ранних стадиях увеличением уровня D-димера) может не контролировать формирование обширного микротромбоза, что приводит к развитию легочного инфаркта, кровоизлиянию и легочной внутрисосудистой коагулопатии, вызванной COVID-19.

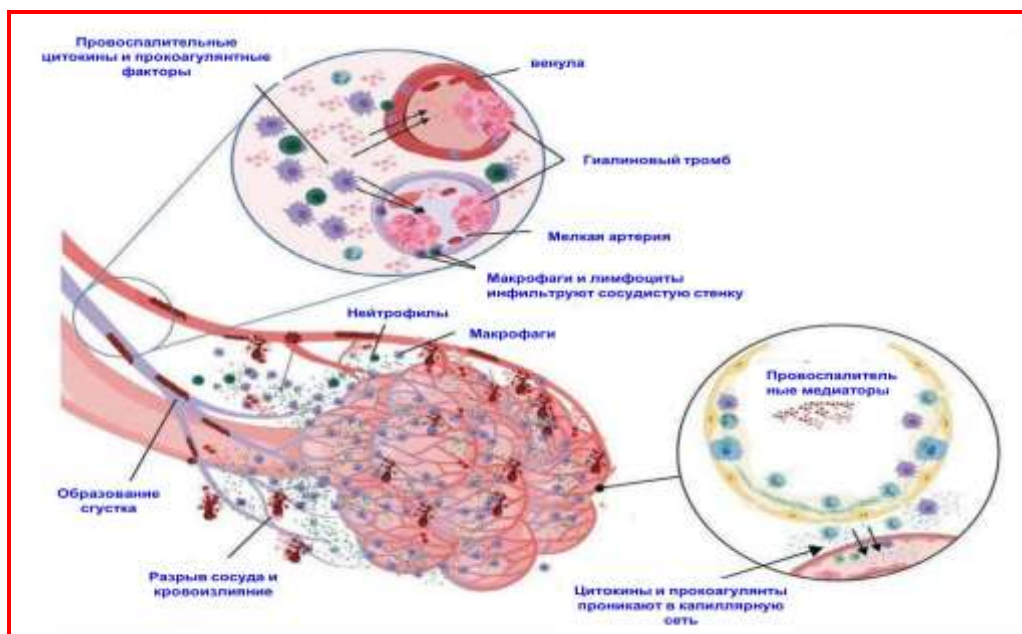


Рис.1. Легочная внутрисосудистая коагулопатия при COVID-19.

«Цитокиновый шторм» как индуктор синдрома системного воспалительного ответа. Вирус SARS-CoV-2 проникает в клетки-хозяина, связываясь с ангиотензин-превращающим ферментом (АПФ-2), который высоко экспрессируется в альвеолярных эпителиальных клетках легких, миоцитах сердца, сосудистом эндотелии и других клетках (рис.2) (19,20).

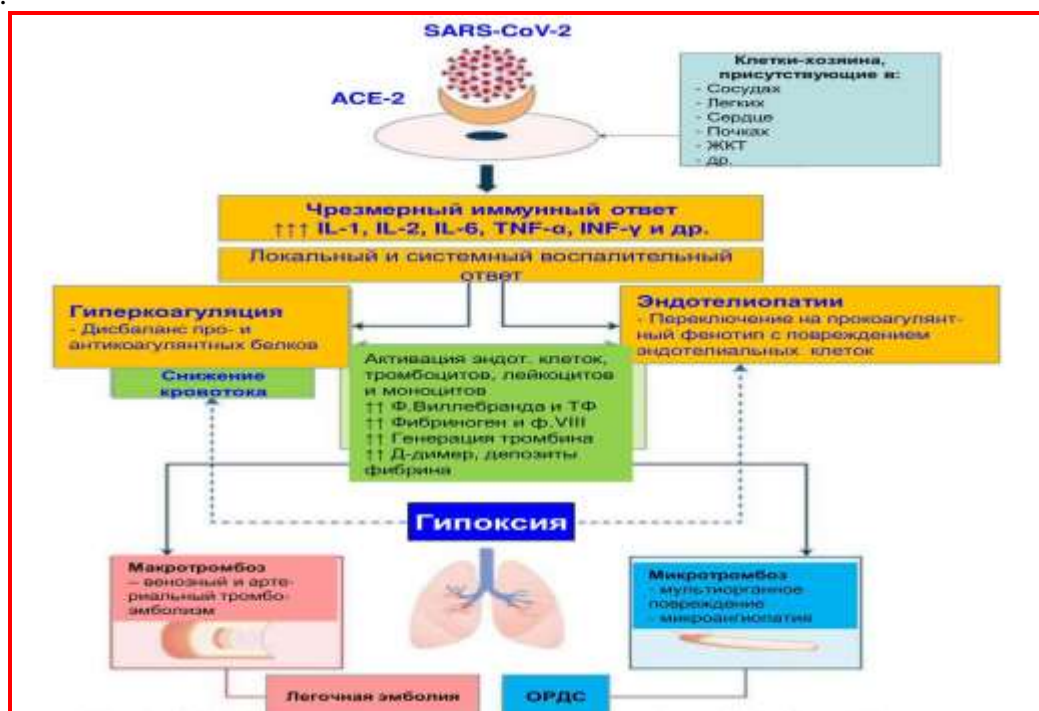


Рис.2. Патофизиология тромбоза у критических больных пациентов с COVID-19.

При агрессивном проникновении SARS-CoV-2 в легкие происходит нарушение функционирования эпителиальных и эндотелиальных клеток, что приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF α) (21,22).

Связь между SARS-Co-2-ассоциированной гипоксией, воспалительным ответом и гиперкоагуляцией с эндотелиопатией.

В этой концепции центральная роль принадлежит эндотелию. Во-первых, COVID-19-ассоциированная гипоксия приводит к сужению сосудов и замедлению кровотока, что способствует эндотелиальной дисфункции. Во-вторых, гипоксия может сдвигать базальный антитромботический и противовоспалительный фенотип эндотелия в направлении прокоагулянтного и провоспалительного фенотипа путем изменения факторов транскрипции, таких как ген роста раннего ответа 1 (Egr1) и фактора индуцируемый гипоксией 1 (HIF-1). В третьих, COVID-19-связанные провоспалительные цитокины вызывают повреждение эндотелия в результате высвобождения сверхбольших мультимеров фактора Виллебранда (ULVWF), участвующих в первичном гемостазе и сверхэкспрессию тканевого фактора (23). Сверхбольшие мультимеры фактора Виллебранда действуют как мост между активированными тромбоцитами, поврежденными эндотелиальными клетками и субэндотелием. Циркулирующие моноциты, нейтрофилы, тромбоциты и микрочастицы связываются с активированным эндотелием, тем самым предоставляют возможность тканевому фактору и нейтрофильным внеклеточным ловушкам (NETs) инициировать коагуляцию через TF/FVIIa. Это приводит к генерированию чрезмерного количества тромбина с последующим состоянием гиперкоагуляции (24) и усилению дисбаланса между прокоагулянтными факторами (FV, FVIII, фибриноген) и природными антикоагулянтами (антитромбин III, протеины C и S).

Макро- и микротромбозы при гиперкоагуляции и эндотелиопатии.

Снижение кровотока, вызванное вазоконстрикцией и стазом вместе с эндотелиальным повреждением и гиперкоагуляцией (триада Вирхова) приводит к повышенному риску тромбоза у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (25,26). Возникновение венозного макротромбоза (тромбоз глубоких вен и легочная эмболия) усиливается при чрезмерном образовании тромбина и усугубляется дисбалансом между про- и антикоагулянтными факторами, тогда как при артериальном макротромбозе (инсульт) наблюдается увеличение уровней ULVWF (27). Интересно, что патофизиология COVID-19-связанного системного микротромбоза может быть специфична и, в частности, отличаться от диссеминированной внутрисосудистой коагуляции. Действительно, в отличие от сепсис-индуцированной коагулопатии, изменение количества тромбоцитов, коагуляционных факторов и фибриногена очень редко приводят к кровотечениям у пациентов с тяжелой формой COVID-19, что свидетельствует о том, что ДВС-синдром является не частым осложнением при COVID-19 (28). Микротромбоз легких является патофизиологической основой COVID-19-связанного острого респираторного дистресс синдрома. У критических пациентов с COVID-19 наблюдаются изменение альвеол и легочные микровакулиты, связанные с образованием комплекса тромбоцит-ULVWF, которые прикрепляются к поврежденному эндотелию и приводят к внутриальвеолярному отложению фибрина, образуя локализованный диссеминированный микротромб (29). Это связано с локальным нарушением тонкого баланса между системой свертывания у пациента и фибринолитическими путями в альвеолярных пространствах. Этот микротромботический вазоокклюзивный процесс будет значительно усиливать сужение сосудов и снижать кровоток, индуцированный глубокой гипоксемией в легочных капиллярах.

Эндотелий сосудов и COVID-19.

Эндотелий сосудов является активным паракринным, эндокринным и аутокринным органом, который необходим для регуляции тонуса сосудов в поддержании их гомеостаза (30). Эндотелиальная дисфункция приводит к смещению сосудистого равновесия в сторону вазоконстрикции с последующей ишемией органов, воспалением тканей и прокоагулянтному состоянию (31). Хотя вирус SARS-CoV-2 использует рецептор АПФ-2, экспрессируемый пневмоцитами и эпителиальной альвеолярной оболочкой для заражения

хозяина, тем самым вызывая повреждение легких, но в тоже время рецептор АПФ-2 экспрессируется на эндотелиальных клетках многих органов, что приводит к их повреждению (рис.3).



Рис.3. Эндотелиальная дисфункция как основная деретминанта при COVID-19.

Коронавирус SARS-CoV-2 получает доступ к клеткам-хозяевам посредством связывания его с АПФ-2, рецептором сиаловой кислоты, трансмембранной сериновой протеазой 2 (TMPRSS2), индуктором металлопротеиназы внеклеточного матрикса (CD147), В проникновении вируса также участвуют катепсины В и L. Эндотелиальная дисфункция является общей чертой клинического проявления, наблюдаемая у больных с COVID-19.

Механизм активации эндотелия после «цитокинового шторма» включает мобилизацию кальция, окислительный стресс, снижение регуляции эндотелиальной нитрит оксид синтазы, необходимой для образования оксида азота, ремоделирование плазматической мембраны, экспозицию таких прокоагулянтов как фосфатилсерина, микрочастиц, экспрессию тканевого фактора, нарушение экспрессии аннексина 5, молекулы адгезии сосудистых клеток 1, молекула межклеточной адгезии 1 и высвобождение цитокинов (хемоаттрактант белка-1 моноцитов).

В качестве примера на рисунке 4 представлена микроскопия почечной ткани, которая показывает наличие вирусных частиц в перитубулярном пространстве и в эндотелиальных клетках клубочковых капиллярных петель. Агрегаты вирусных частиц (показаны стрелкой) отображаются как плотная круглая поверхность с светлым центром. Звездочкой на рис.2.Б обозначено перитубулярное пространство, соответствующее капилляру, содержащем вирусные частицы, а также клубочковая базальная мембрана с эндотелиальной клеткой и вирусной частицей (стрелка; около 150 нм в диаметре).

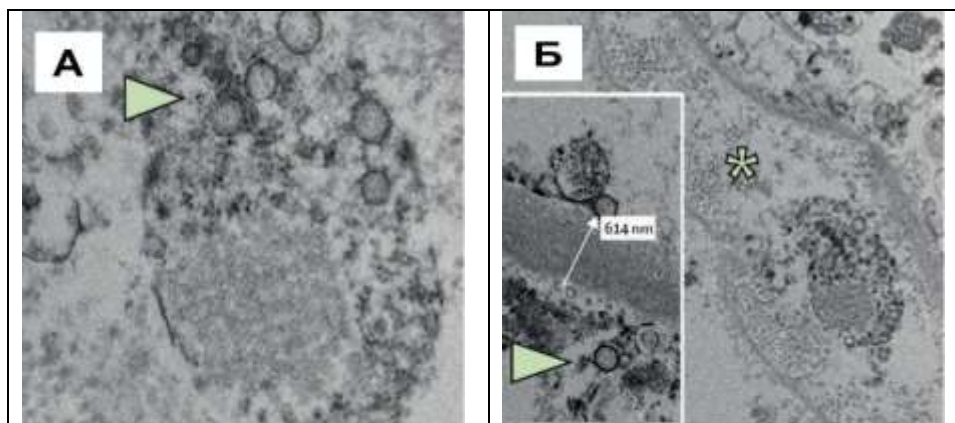


Рис.4. Микроскопия почечной ткани с наличием вирусных частиц COVID-19.

Таким образом, механизм гиперкоагуляции у пациентов с COVID-19 может быть связан с выраженной эндотелиальной дисфункцией.

Антифосфолипидные антитела.

Опубликованы отдельные серии работ, в которых отмечается, что у пациентов с COVID-19 и массивным тромбозом выявлено повышение титров антител к фосфолипидам. Однако подобные транзиторные изменения могут носить неспецифический характер, поскольку часто выявляются при выраженной воспалительной реакции (32-37).

Мониторинг маркеров коагуляции.

Для проведения мониторинга маркеров гемостаза у пациентов с COVID-19 рекомендовано проводить следующие тесты (38):

1. Определение количества тромбоцитов;
2. Протромбиновое время;
3. Активированное частичное тромбопластиновое время;
4. D-димер;
5. Фибриноген.

Клиническое значение параметров тромбоэластографии при COVID-19-ассоциированной коагулопатии продолжает изучаться, но она не должна использоваться рутинно при лечении пациентов.

У пациентов с COVID-19 отмечается нарастание уровня D-димера и продуктов деградации фибрина, удлинение протромбинового времени (сек), а также снижение концентрации фибриногена и антитромбина III.

На рисунке 5 представлен рекомендуемый алгоритм проведения тестов для исследования гемостаза при COVID-19 (ISTH, Международное общество по тромбозам и гемостазу) (39).

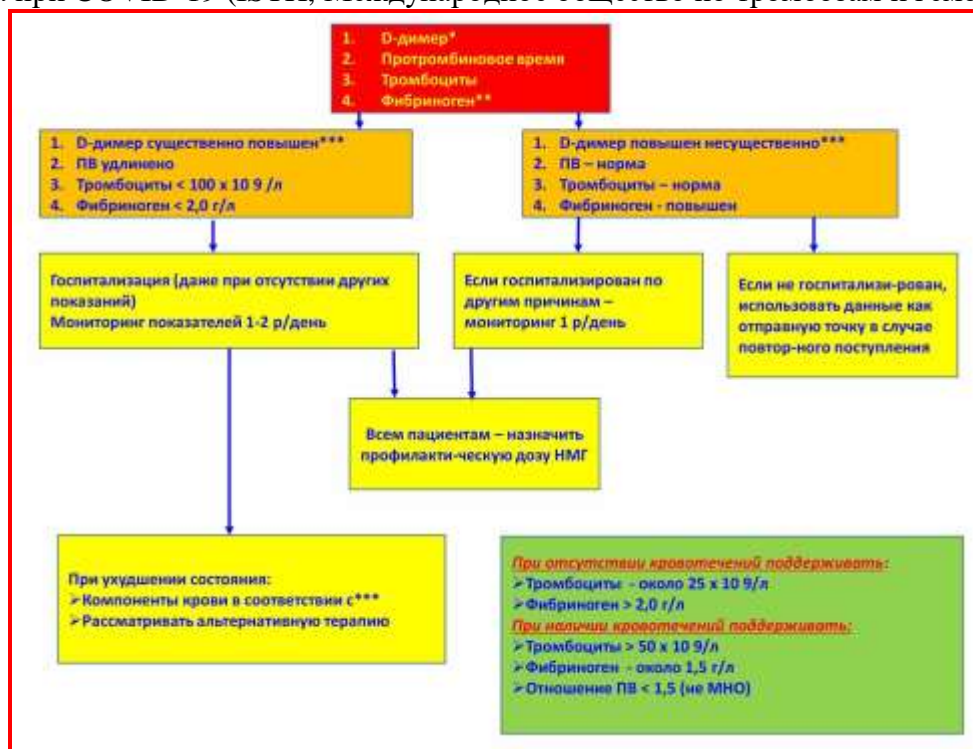


Рис.5. Алгоритм проведения тестов для исследования гемостаза при COVID-19.

При использовании алгоритма необходимо учитывать влияние сопутствующих факторов, которые могут оказать влияние на показатели (например, заболевания печени, антикоагулянты и др.)

*Параметры указаны в порядке уменьшения значимости.

****Определение фибриногена может быть недоступно для части лабораторий, но мониторинг его уровня может быть полезен после госпитализации.**
Несмотря на то, что для D-димера cut-off не определен, увеличение его уровня в 3-4 и более раз может рассматриваться как значительное. Другие числовые значения в данной схеме являются значимыми.

Заключение

Нарушение системы гемостаза у пациентов с COVID-19 связано с повышенным риском смерти. Актуальность этого становится все более очевидным, так как у значительной доли пациентов с тяжелой формой COVID-19 развиваются, однако иногда не распознаются артериальные и тромбоемболические осложнения. Среди изменений показателей, характеризующих состояние системы гемостаза и связанных с тяжестью заболевания и его прогнозом, при COVID-19 отмечается повышения в крови уровня D-димера, увеличение протромбинового времени, а также тромбинового и активированного частичного тромбопластинового времени. Тромбоцитопения также связана с тяжестью и прогнозом заболевания, однако редко бывает выраженной.

Литература

1. Stief, T.W.; Ijagha, O.; Weiste, B.; Herzum, I.; Renz, H.; Max, M. Analysis of hemostasis alterations in sepsis. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2007, 18, 179–186.
2. Di Micco, B.; Metafora, S.; Colonna, G.; Carteni, M.; Ragone, R.; Macalello, M.A.; Di Micco, P.; Baroni, A.; Catalanotti, P.; Tufano, M.A. Porins from *Salmonella typhimurium* accelerate human blood coagulation in vitro by selective stimulation of thrombin activity: Implications in septic shock DIC pathogenesis. *J. Endotoxin. Res.* 2001, 7, 211–217.
3. Iba, T.; Levi, M.; Levy, J.H. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Semin Thrombhemost* 2020, 46, 89–95.
4. Chang, J.C. Acute Respiratory Distress Syndrome as an Organ Phenotype of Vascular Microthrombotic Disease: Based on Hemostatic Theory and Endothelial Molecular Pathogenesis. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2019, 25, 1–20.
5. Zhu, H., L. Wei, and P. Niu, The novel coronavirus outbreak in Wuhan, China, in *Glob Health Res Policy*. 2020.
6. Emami, A., et al., Prevalence of Underlying Diseases in Hospitalized Patients with COVID-19: a Systematic Review and Meta-Analysis, in *Arch Acad Emerg Med*. 2020.
7. Yi, Y., et al., COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease, in *Int J Biol Sci*. 2020. p. 1753-66.
8. Severe Outcomes Among Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - United States, February 12-March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2020. 69(12): p. 343-346.
9. Zhou, F., et al., Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020. 395(10229): p. 1054-1062.
10. Guan, W.J., et al., Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020.
11. Huang, C., et al., Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020. 395(10223): p. 497-506.
12. Tang, N., et al., Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*, 2020. 18(4): p. 844-847.
13. Klok, F., et al., Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19, in *Thromb Res*.
14. Llitjos, J.F., et al., High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost*, 2020.

15. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM et al (2020) Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*.
16. Helms J, Tacquard C, Severac F et al (2020) High risk of thrombosis in patients in severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med*.
17. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L et al (2020) Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res* 191:9–14.
18. Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D et al (2020) COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up. *J Am Coll Cardiol*.
19. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P et al (2020) Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*.
20. Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H (2020) The science underlying COVID-19: implications for the cardiovascular system. *Circulation*.
21. Zhang W, Zhao Y, Zhang F et al (2020) The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clin Immunol* 214:108393.
22. Tu W-J, Cao J, Yu L et al (2020) Clinicolaboratory study of 25 fatal cases of COVID-19 in Wuhan. *Intensive Care Med*.
23. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z (2020) Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 18:844–847.
24. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P et al (2020) Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost*.
25. Tang N, Bai H, Chen X et al (2020) Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 18:1094–1099
26. Thachil J, Tang N, Gando S et al (2020) ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost*.
27. Chang JC (2019) Acute respiratory distress syndrome as an organ phenotype of vascular microthrombotic disease: based on hemostatic theory and endothelial molecular pathogenesis. *Clin Appl Thromb Hemost* 25:1–20.
28. Fogarty H, Townsend L, Ni Cheallaigh C et al (2020) COVID-19 coagulopathy in Caucasian patients. *Br J Haematol*.
29. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio AM et al (2020) Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS):an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *CritCare Resusc* [Epub ahead of print].
30. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, et al. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* 2012; 126: 753-67.
31. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction - a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscl Throm Vas* 2003; 23: 168–75.
32. Galeano-Valle F, Oblitas CM, Ferreiro-Mazon MM, Alonso-Munoz J, del Toro-Cervera, Demelo-Rodriguez P. Antiphospholipid antibodies are not elevated in patients with severe COVID-19 pneumonia and venous thromboembolism. *Thromb Res* 2020, in Press.
33. Harzallah I, Debliquis A, Drénou B. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19. *Thromb Haemost* 2020; Apr 23. Doi: 10.1111/jth.14867.
34. Bowles L, Platton S, Yartey N, Dave M, Lee K, Hart DP, et al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020 May 5; NEJMc2013656. doi: 10.1056/NEJMc2013656.
35. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, de Laat B for the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid antibodies. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018; 16:809-813.

36. Pengo V, Testa S, Martinelli I, Ghirarduzzi A, Legnani C, Gresele P, et al. Incidence of a first thromboembolic event in carriers of isolated lupus anticoagulant. *Thromb Res* 2015; 135 (1):46-49.
37. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand H, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (10):1737-1740.
38. Wada H, Thachil J, Di Nisio M, et al. Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis. *J Thromb Haemost.* 2013.
39. Thachil J, Tang N, Gando S, Falanga A, Marco Cattaneo M, Levi M, Cary Clark C, Iba T. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19 *J Thromb Haemost.* 2020;18:1023–1026.