

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ДОНЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**РОЛЬ ТРОМБОТИЧЕСКОГО ЭНДОТЕЛИИТА
В РЕАЛИЗАЦИИ РИСКА ТЯЖЕЛОГО
ТЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
И ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ
ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА**

**Кафедра внутренних болезней №1
асс. Черкащенко С.О.,
д.м.н., доц. Щукина Е.В.,
асс. Шестерина Ю.Б.,
к.м.н. Майлян Д.Э.,
к.м.н. Грушко И.В.**

Донецк, 04.05.2023

Актуальность

- Новая коронавирусная инфекция (Coronavirus Disease 2019 – COVID-19), впервые стала регистрироваться в 2019 году в Ухане и быстро распространилась по всему миру, унеся более 6,5 миллионов жизней [1].
- Риск смерти от всех причин при COVID-19 увеличился в 118 раз (ОР 118,0; 95% ДИ: 73,32-190,0; $p < 0,0001$), при этом первичная смерть от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) выросла почти в 9 раз (ОР 8,8; 95% ДИ: 2,5-3,5; $p = 0,001$) [2].
- Весомый вклад в структуру заболеваемости и летальности ССЗ при COVID-19 внесли тромботические и/или тромбоэмболические события.
- Риск возникновения только венозных тромбоемболий (ВТЭ) был выше в 2,7 раза (ОР 2,7; 95% ДИ: 1,4-5,5; $p = 0,004$) среди инфицированных SARS-CoV-2, но негоспитализированных лиц, и выше в 27,6 раз у госпитализированных (ОР 27,6; 95% ДИ: 14,5-52,3; $p < 0,0001$) по сравнению с неинфицированными пациентами [2].

[1] Lazarus J. V., Romero D., Kopka C. J., Karim S. A., Abu-raddad L. J., Almeida G., Baptista-leite R., Barocas J. A., Barreto M. L., Bar-yam Y., Bassat Q., Batista C., Bazilian M., Chiou S., Del Rio C., Dore G. J., Gao G. F., Gostin L. O., Hellard M., Jimenez J. L., Kang G., Lee N., Matičić M., Mckee M. A Multinational Delphi Consensus To End The COVID-19 Public Health Threat. Nature. 2020;611:332–345. Doi.Org/10.1038/S41586-022-05398-2

[2] Raisi-estabragh Z., Cooper J., Salih A., Raman B., Lee A. M., Neubauer S., Harvey N. C., Petersen S. E. Cardiovascular Disease And Mortality Sequelae Of Covid-19 In The Uk Biobank. Heart. 2022;109(2):119-126. Doi: 10.1136/Heartjnl-2022-321492.

Актуальность

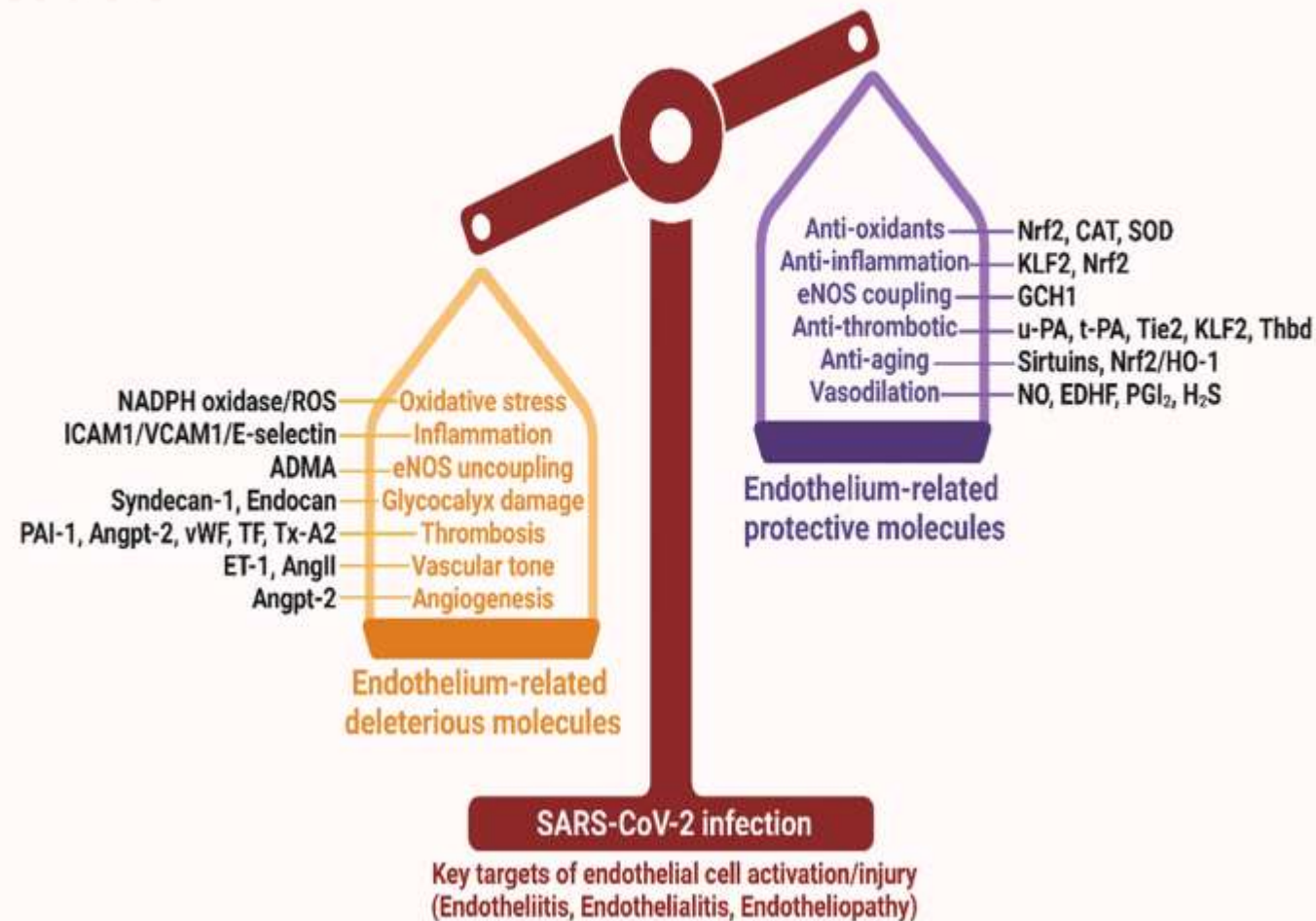
- Также по некоторым данным у пациентов с COVID-19 и тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) смертность была значительно выше, чем у пациентов без ТЭЛА, 21,9% против 10,7% соответственно (ОШ 2,21; 95% ДИ: 1,30–3,76; $p=0,003$) [1].
- Весомый вклад в структуру заболеваемости и летальности ССЗ при COVID-19 внесли тромботические и/или тромбоэмболические события.
- Однако по мере изучения стали появляться данные о пролонгации протромботического статуса спустя 12 недель и более после выздоровления от COVID-19. В постковидном периоде риски тромботических и/или тромбоэмболических событий остаются значительными. Так, риск возникновения ТЭЛА оказался выше почти в 3 раза (ОР 2,93; 95% ДИ: 2,73-3,15, $p<0,05$), а риск тромбоза глубоких вен (ТГВ) – в 2 раза (ОР 2,09; 95% ДИ: 1,94-2,24; $p<0,05$) [2].

[1] Fu Z., Bai G., Song B., Wang Y., Song H., Ma M., Zhu J., Zhang Z., Kang Q. Risk Factors And Mortality Of Pulmonary Embolism In Covid-19 Patients: Evidence Based On Fifty Observational Studies. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Nov 11;101(45):e29895. Doi: 10.1097/Md.00000000000029895

[2] Xie Y., Xu E., Bowe B., Al-aly Z. Long-term Cardiovascular Outcomes Of COVID-19. *Nat Med*. 2022;28(3):583-590. Doi: 10.1038/S41591-022-01689-3.

Актуальность

- Ведущим звеном в развитии коагулопатии с гиперкоагуляцией в остром и постковидном периодах является эндотелиальная дисфункция, которая возникает как в результате прямого воздействия коронавируса SARS-CoV-2, так и за счет опосредованных механизмов, а именно изменения сосудистого тонуса, окислительного стресса, цитокинового шторма, адгезии лейкоцитов, эндотелиально-мезенхимального перехода, митохондриальной дисфункции [1,2].
- Взаимодействия между маркерами воспаления и эндотелиальными клетками (ЭК) могут привести к формированию иммунотромбоза [3].



[1] Xu S. W., Ilyas I., Weng J. P. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol Sin.* 2022;17:1–15.

doi: 10.1038/s41401-022-00998-0

[2] Игнатенко Г. А., Налетов С. В., Налетова Е. Н., Сердюк Е. Б., Алесинский М. М., Налётова О.С., Коровка И.А. Дисфункция эндотелия у больных гипертонической болезнью, перенесших COVID-19. *Архив клинической и экспериментальной медицины.* 2022;31(2): 127-131.

[3] Jing H., Wu X., Xiang M., Liu L., Novakovic V. A., Shi J. Pathophysiological mechanisms of thrombosis in acute and long COVID-19. *Front Immunol.* 2022;13:992384. doi: 10.3389/fimmu.2022.992384.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

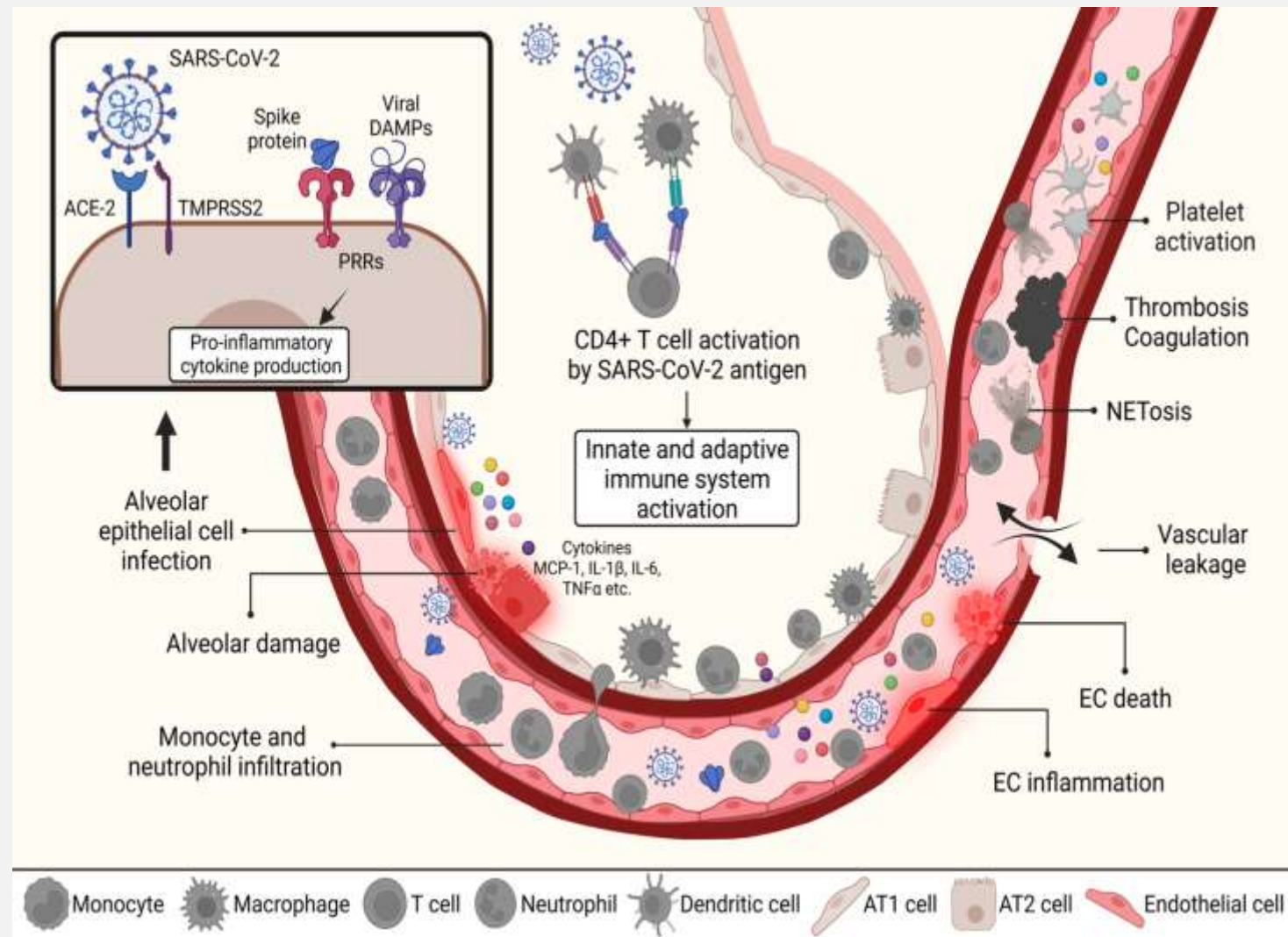
- Пациенты с тяжелым течением COVID-19 склонны к возникновению коагулопатий с гиперкоагуляцией, сопровождающихся повышением концентраций фибриногена, D-димера и увеличением активности фактора VIII, а также снижением уровней протеина S, протеина C и антитромбина. Это может привести к тромбозам крупных сосудов и таким состояниям, как ТЭЛА, ТГВ и артериальной тромбоэмболии [1].
- Существует ряд исследований, которые подтверждают, что COVID-19 сопровождается гиперкоагуляцией из-за усиленного цитокинового ответа.
- Kumar R., et al., указывают [2], что цитокины, такие как интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-1 (ИЛ-1) и фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), являются основными провоспалительными медиаторами, способными вызвать активацию системы свертывания крови.

[1] Mehrabi F., Farshbafnadi M., Rezaei N. Post-discharge thromboembolic events in COVID-19 patients: A review on the necessity for prophylaxis. Clin appl thromb hemost. 2023;29:10760296221148477. Doi: 10.1177/10760296221148477.

[2] Kumar R., Aktay-Cetin Ö., Craddock V., Morales-Cano D., Kosanovic D., Cogolludo A., Perez-Vizcaino F., Avdeev S., Kumar A., Ram A. K., Agarwal S., Chakraborty A., Savai R., de Jesus Perez V., Graham B. B., Butrous G., Dhillon N. K.. Potential long-term effects of sars-cov-2 infection on the pulmonary vasculature: multilayered cross-talks in the setting of coinfections and comorbidities. Plos pathog. 2023;19(1):e1011063. Doi: 10.1371/journal.Ppat.1011063.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

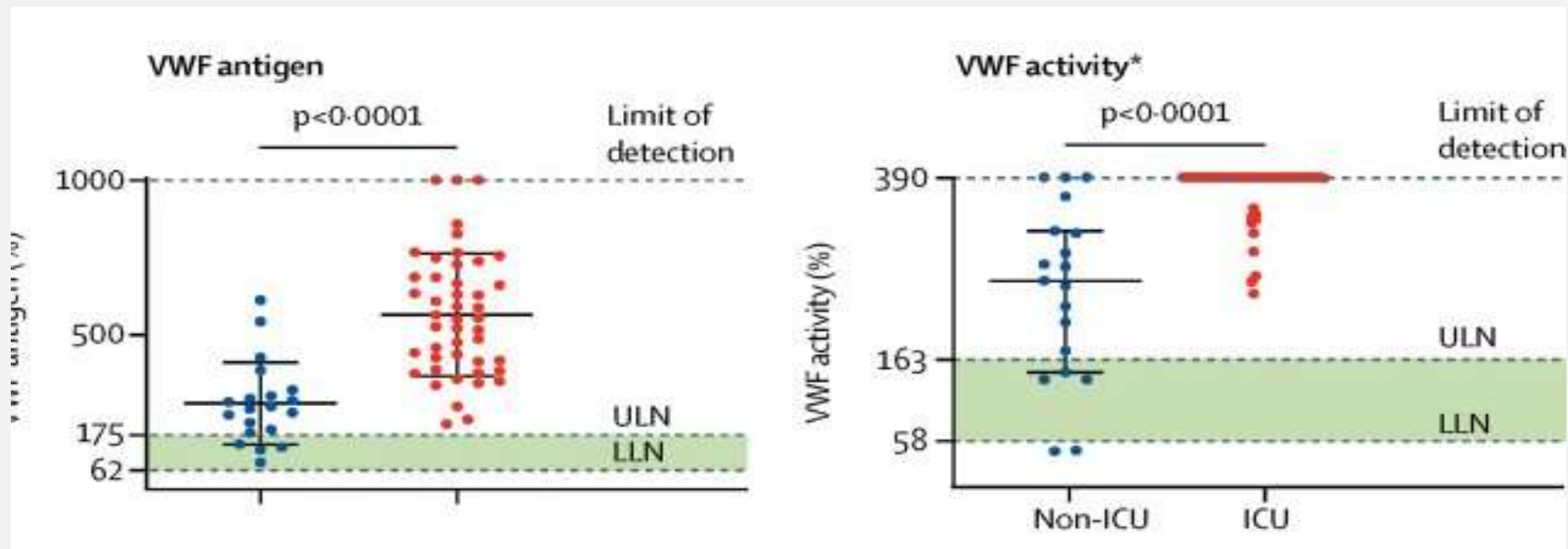
- Основной механизм, с помощью которого воспаление вызывает каскад свертывания крови, заключается в том, что ИЛ-6, ИЛ-1 и ФНО- α индуцируют экспрессию ТФ на моноцитах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках.
- При разрушении эндотелия ТФ вступает в прямой контакт с кровью в просвете сосудов и может активировать каскад свертывания, образуя комплекс ТФ-VIIa. Это приводит к последующей выработке тромбина, который впоследствии превращает фибриноген в фибрин.
- Эндотелий сосудов является одной из основных мишеней для SARS-CoV-2.
- Прямая вирусная инфекция и выбросы воспалительных цитокинов являются вероятными механизмами повреждения эндотелия, вызванного SARS-CoV-2.
- ЭК в состоянии покоя не экспрессируют ТФ, но воспалительные цитокины могут стимулировать его выделение [1].



[1] Martinelli N., Rigoni A. M., De Marchi S., Osti N., Donini M., Montagnana M., Castagna A., Pattini P., Udali S., De Franceschi L., Tinazzi E., Mazzi F., Moruzzi S., Argentino G., Delfino L., Sartori G., Azzini A. M., Tacconelli E., Van Dreden P., Lippi G., Girelli D., Olivieri O., Friso S., Pizzolo f. High plasma levels of activated factor vii-antithrombin complex point to increased tissue factor expression in patients with sars-cov-2 pneumonia: A potential link with COVID-19 prothrombotic diathesis. *Diagnostics (basel)*. 2022;12(11):2792. Doi: 10.3390/diagnostics12112792.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

- Эндотелиопатия и активация тромбоцитов, усиление их агрегации являются важными признаками COVID-19 у госпитализированных пациентов.
- При этом повышение экспрессии vWF, который является установленным маркером активации эндотелия, отмечалось у пациентов с COVID-19, находящихся как в критическом состоянии, так и у нетяжелых [1].



[1] Goshua G., Pine A. B., Meizlish M. L., Chang C-H., Zhang H., Bahel P., Baluha A., Bar N., Bona R. D., Burns A. J., Cruz C. S. D., Dumont A., Halene S., Hwa J., Koff J., Menninger H., Neparidze N., Price C., Siner J. M., Tormey C., Rinder H. M., Chun H. J., Lee A. I. Endotheliopathy in covid-19-associated coagulopathy: evidence from a single-centre, cross-sectional study. The lancet haematology. 2020;7(8):575-582. Doi.Org/10.1016/s2352-3026(20)30216-7.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

- Выделяют еще один маркер эндотелиальной дисфункции - **межрегиональный проадреномедуллин (MR-proADM)**.
- Так, согласно данным Fialek B., et al. [1], MR-proADM снижает уровень ингибиторов агрегации тромбоцитов, ингибиторов коагуляции и активаторов фибринолиза в пользу факторов свертывания, что позволило использовать его в качестве прогностического маркера тяжести и смертности от COVID-19.
- Уровень MR-proADM в группе выживших при COVID-19 составил $0,84 \pm 0,29$ нмоль/л по сравнению с $1,69 \pm 0,76$ нмоль/л для невыживших (OR 0,78; 95% ДИ: 0,92-0,64; $p < 0,001$).

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)

отражает работу внутреннего пути каскада свертывающей системы крови человека.

- У пациентов с острой инфекцией COVID-19 АЧТВ часто остается в пределах нормы.
- Средняя продолжительность АЧТВ одинакова у пациентов с COVID-19, находящихся в критическом и некритическом состоянии, без существенной корреляции с тяжестью заболевания или смертностью.
- Таким образом, АЧТВ не может считаться надежным показателем прогрессирования заболевания при COVID-19 [1].

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Протромбиновое время (ПВ) отражает работу внешнего пути каскада свертывания крови.

- ПВ остается нормальным у большинства пациентов с острым COVID-19, и только у 5% пациентов выявляется его удлинение.
- Тем не менее, в среднем, ПВ на 1,9 с дольше в случаях с летальным исходом COVID-19 по сравнению с не смертельными случаями. Кроме того, примерно в 48% случаев со смертельным исходом развивается выраженное и прогрессирующее удлинение ПВ более чем на 6 с в течение заболевания, что может быть ассоциировано с развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови.
- Таким образом, прогрессирующее удлинение ПВ считается неблагоприятным признаком и предиктором смертности .

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Фибриноген в эпоху пандемии стал предметом исследования из-за тесной взаимосвязи между COVID-19 и коагулопатией.

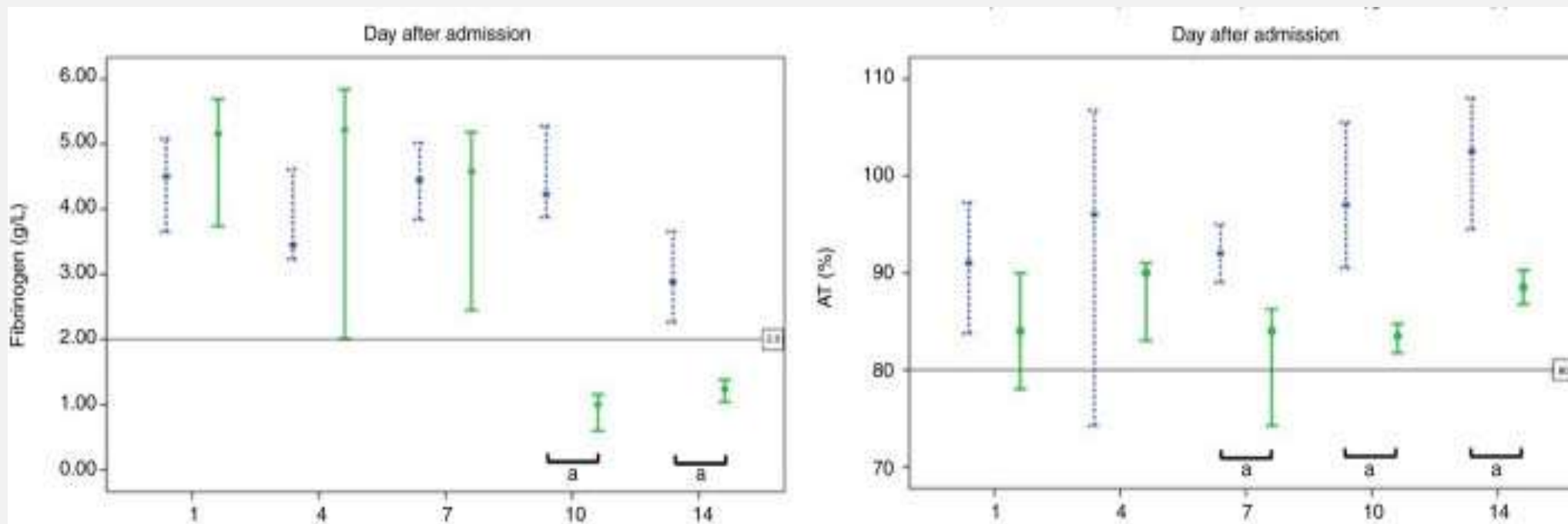
- Хан и др. [1] исследовали изменения в свертываемости крови пациентов, инфицированных COVID-19.
- Уровень фибриногена и продуктов его распада не только выше у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровым контролем ($5,02 \pm 1,53$ против $2,90 \pm 0,53$ г/л, $p < 0,001$), но и выше у пациентов с COVID-19 в критическом состоянии по сравнению с пациентами с нетяжелым течением ($5,59 \pm 2,26$ против $5,10 \pm 1,16$ г/л, $p < 0,01$).

[1] Han H., Yang L., Liu R., Liu F., Wu K., Li J., Liu X., Zhu C. Prominent changes in blood coagulation of patients with sars-cov-2 infection. Clinical chemistry and laboratory medicine (CCLM). 2020;58(7): 1116-1120. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0188>

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Фибриноген

- С другой стороны, сообщалось, что уровни фибриногена статистически незначимые между выжившими и не выжившими пациентами с COVID-19 в разных когортах (5,16 против 4,51 [3,65-5,09] г/л, $p=0,149$) [1].



Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Фибриноген

- Однако прогрессирующее снижение уровня фибриногена у лиц с тяжелым течением инфекции тесно связано со смертностью: примерно в 29% случаев со смертельным исходом уровень фибриногена составляет менее 1 г/л [1].
- Таким образом, можно интерпретировать это как признание того, что уровень фибриногена у госпитализированных пациентов будет выше нормы, однако он может не иметь прогностического значения для смертности у пациентов с COVID-19.
- Фибриноген следует оценивать вместе с уровнями D-димера, поскольку его постепенное снижение вместе с повышением уровня D-димера играют важную роль в диагностике коагулопатии.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

D-димер представляет собой растворимый продукт распада фибрина, который образуется после активации коагуляции и фибринолиза.

- Сообщалось, что его уровень в сыворотке крови повышается при усугублении тяжести COVID-19.
- В одном из исследований Chaudhary R., et al. [1] уровни D-димера были повышены в группе больных с тяжелым течением по сравнению с группой нетяжелого течения ($2,9 \pm 3,1$ против $0,8 \pm 0,8$ мг; 95% ДИ: 0,49-0,71; $p < 0,001$).
- В исследовании Чжоу и др. [2] установлено, что при уровне D-димера >1 мкг/мл у госпитализированных пациентов увеличивался риск внутрибольничной смертности (ОР 18,4; 95% ДИ: 2,6-128,6; $p = 0,0033$).

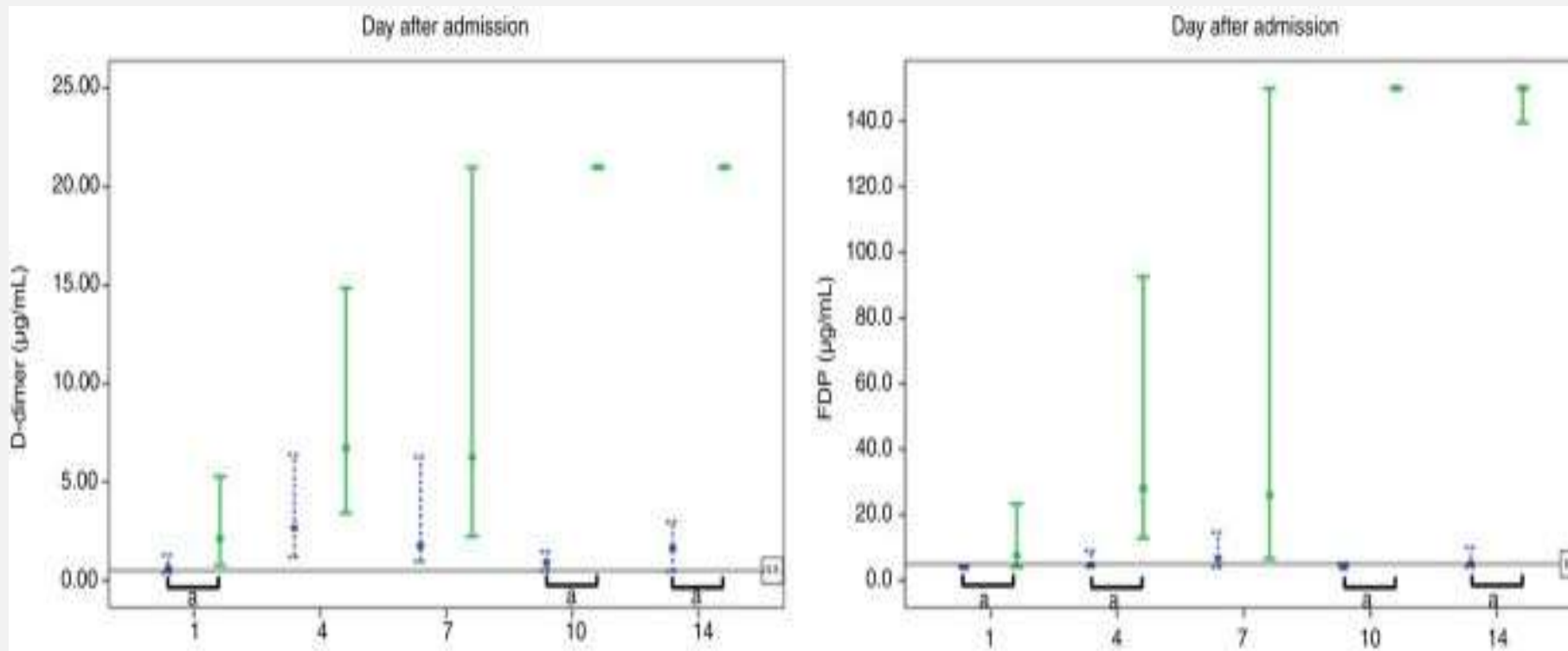
[1] Chaudhary R., Garg J., Houghton D. E., Murad M. H., Kondur A., Chaudhary R., Wysokinski W. E., Mcbane R. D. 2nd. Thromboinflammatory biomarkers in COVID-19: systematic review and meta-analysis of 17,052 patients. Mayo clin proc innov qual outcomes. 2021;5(2):388-402. Doi: 10.1016/j.Mayocpiqo.2021.01.009.

[2] Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in wuhan, china: a retrospective cohort study. Lancet. 2020;395(10229):1054-1062. Doi.Org/10.1016/s0140-6736(20)30566-3.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

Д-димер

- Доказано, что Д-димер выше у не выживших пациентов по сравнению с выжившими во всех ретроспективных исследованиях (ОР 2,93; 95% ДИ: 2,14-4,01; $p < 0,001$) [17].



Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в остром периоде COVID-19

D-димер

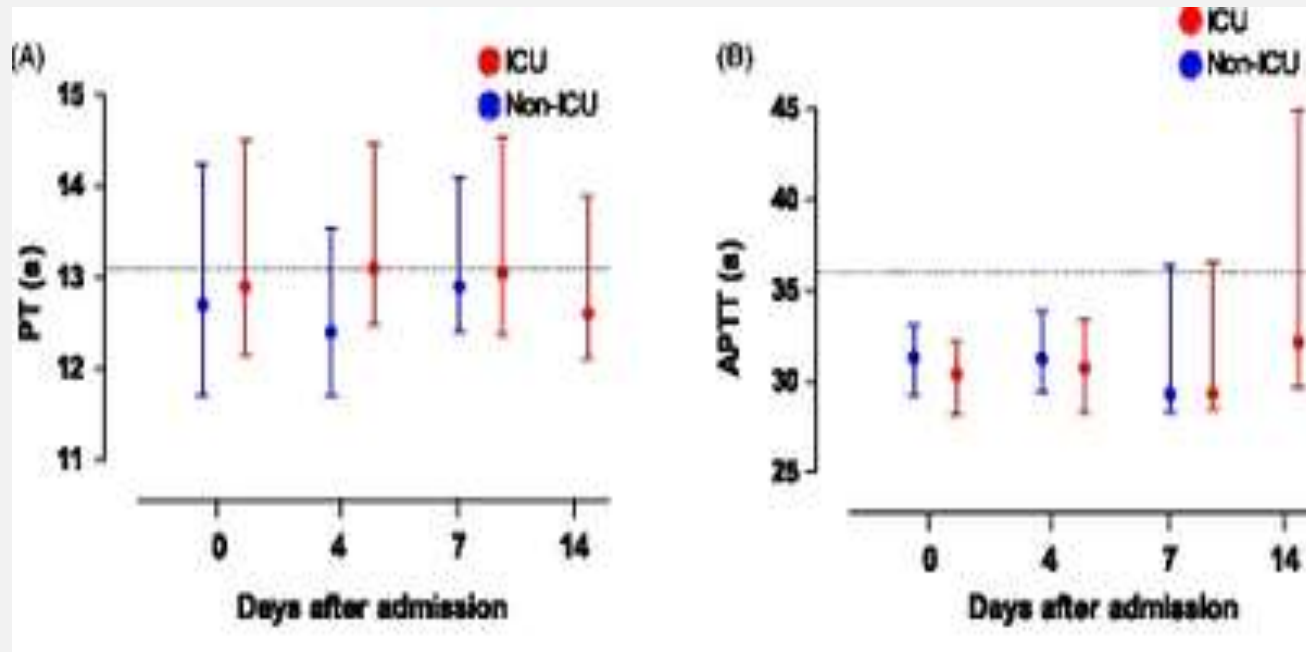
- В одной из работ Middeldorp S. et al. [1] обнаружили, что количество лейкоцитов (ОР 1,9; 95% ДИ: 1,1-3,2; $p < 0,05$), более высокое соотношение нейтрофилов к лимфоцитам (ОР 2,0; 95% ДИ: 1,3-3,1; $p = 0,03$) и более высокий уровень D-димера (ОР 1,6; 95% ДИ: 1,2-2,1; $p < 0,05$) являются независимыми факторами риска, связанными с ВТЭ.
- Повышенный уровень D-димера продемонстрировал высокую прогностическую ценность и был связан с увеличением общего неблагоприятного исхода.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- Эндотелиопатия и протромботическое состояние сохраняются и в постковидном периоде, что продемонстрировано в ряде исследований.
- Например, Фогарти [1] с соавторами показал, что в течение 10 недель после острой инфекции SARS-CoV-2 сохраняется устойчивая активация ЭК.
- При этом данная персистирующая эндотелиопатия возникает независимо от продолжающегося воспалительного ответа и связана с повышенным образованием тромбина.

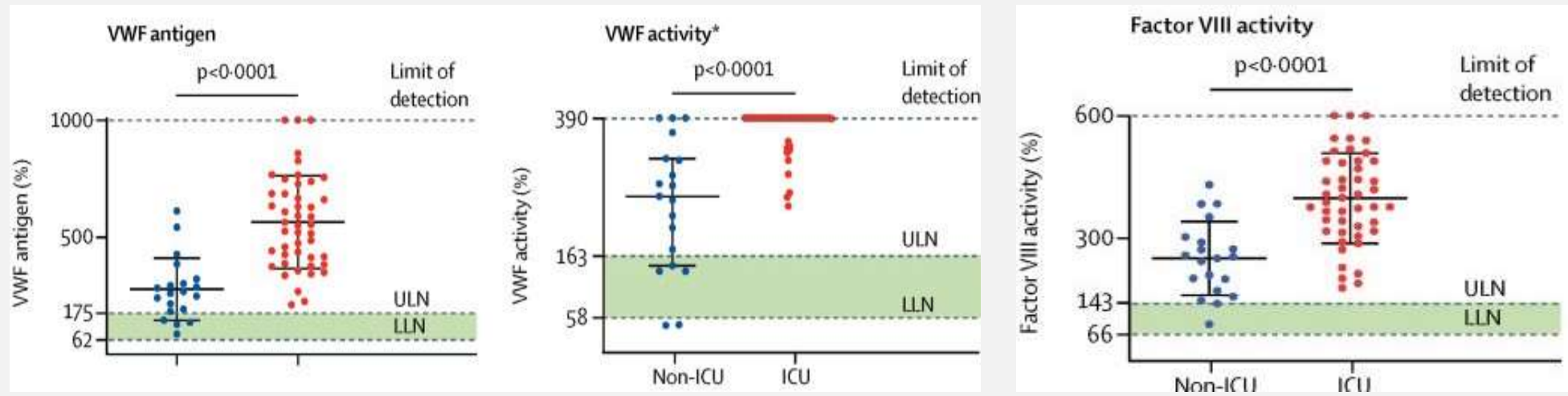
Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- Анализы образования тромбина выявили более короткое время запаздывания (95% ДИ: от -2,57 до -1,02 мин; $p < 0,0001$), повышенный эндогенный тромбиновый потенциал (95% ДИ: 15–416 нМ/мин, $p = 0,04$) и пик тромбина (95% ДИ: 39–93 нМ, $p < 0,0001$) у выздоравливающих пациентов с COVID-19 [1].



Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- Биомаркеры эндотелиальных клеток, включая антиген vWF (vWF:Ag), пропептид vWF (vWFpp) и фактор VIII, также были значительно повышены у выздоравливающих пациентов с COVID-19.
- В среднем через 68 дней после заражения SARS-CoV2 отмечалось повышение vWF:Ag (95% ДИ: 0,09–0,57 МЕ/мл; $p=0,004$), vWFpp (95% ДИ: 0,06–0,5 МЕ/мл; $p=0,009$), фактора VIII (95% ДИ: 0,03–0,44 МЕ/мл; $p=0,04$) по сравнению с контрольной группой здоровых лиц [1].



Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- Активно изучается связь между состоянием гиперкоагуляции и сохранением симптомов в постковидном периоде спустя 12 недель и более, что получило название в литературе как ПКС.
- Например, в исследовании Тернер и соавторы [1] продемонстрировали, что следствием коагулопатии в ПКС является образование фибринамилоидных микросгустков, которые устойчивы к фибринолизу и могут вызывать ишемически-реперфузионное повреждение.
- Авторы утверждают, что в основе патогенеза ПКС лежит *тромботический эндотелиит*, что может характеризоваться образованием аномальных фибринамилоидных микросгустков, гиперактивированных тромбоцитов и повышенных уровней протромботических воспалительных молекул, таких как vWF, тромбоцитарный фактор-4, сывороточный амилоид А, α -2 антиплазмин, Е-селектин и молекулы адгезии эндотелиальных клеток тромбоцитов-1 в крови у лиц с ПКС по сравнению с лицами без него. Каждая из отдельных молекул может вызывать значительную эндотелиальную дисфункцию и активацию тромбоцитов, что в конечном итоге приводит к тяжелому дисбалансу гемостаза и патологии эндотелия.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- В исследовании Fan B.E., et al. [1] выздоровевшие пациенты с COVID-19 спустя 4 месяца также показали более высокие биомаркеры гиперкоагуляции и эндотелиопатии.
- Отмечались значительно более высокие уровни D-димера ($p < 0,001$) и фактора VIII ($p = 0,004$) по сравнению со здоровыми лицами. Это коррелировало с тестами образования тромбина, где его образование показало более высокий эндогенный тромбиновый потенциал ($p = 0,002$).
- Также у пациентов с ПКС наблюдался повышенный эндотелиальный биомаркер- vWF:Ag ($p = 0,02$). Таким образом, в постковидном периоде сохраняется эндотелиальная дисфункция и увеличение содержания прокоагулянтов, что характеризует протромботическое состояние, а также может иметь связь с ПКС.

Роль тромботического эндотелиита и значимость биомаркеров гемостаза в постковидном периоде

- В однофакторном анализе Townsend L., et al. [1] наблюдали повышение уровня D-димера преимущественно у пациентов в возрасте старше 50 лет ($p < 0,001$) и у пациентов с сопутствующими заболеваниями ($p < 0,001$), при этом повышенные уровни D-димера в плазме не были связаны с продолжающимися острофазовыми реакциями.
- Примечательно, что ПВ и АЧТВ вернулись к нормальному диапазону у гораздо большей части пациентов в постковидном периоде.
- У выздоравливающих пациентов не было признаков гипофибриногенемии.
- Другие параметры гемостаза у выздоровевших пациентов с COVID-19, включая время свертывания тромбина, фактор V, протеин C, протеин S имели нормальные средние уровни без статистически значимых различий ($p > 0,05$) с контрольной группой здоровых лиц.

Заключение

- Основопологающим механизмом гиперкоагуляции является развитие тромботического эндотелиита.
- Гиперпродукция тромбина, а также повышение маркеров дисфункции эндотелия, таких как vWF и фактора VIII, характерны для пациентов с COVID-19 тяжелого и нетяжелого течения острой стадии, а также для постковидного синдрома.
- Среди всех показателей коагулограммы, наиболее прогностически значимым для острого периода оказались D-димер и фибриноген, тогда как в постковидном периоде эти маркеры не продемонстрировали свою ценность.



Спасибо за внимание!

