

Особенности нарушения системы свертывания крови у больных COVID-19

Н.Г. Евтюгина^{✉1}, С.С. Санникова², А.Д. Пешкова¹, С.И. Сафиуллина^{1,3}, И.А. Андрианова¹, Г.Р. Тарасова¹, А.И. Хабирова¹, А.Г. Румянцев⁴, Ф.И. Атауллаханов^{4,5}, Р.И. Литвинов¹

¹ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия;

²ГАУЗ «Городская клиническая больница №16», Казань, Россия;

³Медицинский центр «Айболит», Казань, Россия;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия;

⁵ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук, Москва, Россия

Аннотация

Цель. Изучить связь гемостатических нарушений с воспалением и вклад коагулопатий в течение и исходы COVID-19.

Материалы и методы. Обследованы 215 пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами болезни на фоне антикоагулянтной и иммуносупрессивной терапии. Гемостаз оценивали по тестам тромбодинамики, тромбоэластографии, уровням фибриногена и D-димера, протромбиновому времени и растворимым комплексам фибрин-мономера. Показатели гемостаза сопоставляли с гемограммой и биохимией крови, включая маркеры воспаления (С-реактивный белок, интерлейкины 6 и 8), а также с клинической картиной.

Результаты. Признаки коагулопатии выявлены у подавляющего большинства обследованных. Несмотря на применение низкомолекулярных гепаринов в профилактических и лечебных дозах, коагулопатия при COVID-19 протекает преимущественно по типу гиперкоагуляции, выраженность которой прямо коррелирует с системной воспалительной реакцией и метаболическими сдвигами вследствие дисфункции печени и почек. Обнаружена прямая связь между степенью гемостатических расстройств и тяжестью течения COVID-19, включая наличие сопутствующих заболеваний и вероятность неблагоприятного исхода. Примерно в 1/4 случаев обнаружена хронотрическая гипокоагуляция в сочетании с высоким уровнем С-реактивного белка в крови, который может тормозить свертывание *in vitro* и тем самым маскировать истинную тромбофилию при активном воспалении. Персистирующие высокие уровни фибриногена и D-димера при отсутствии признаков коагулопатии потребления свидетельствуют о преобладании локального и/или регионального микротромбоза над диффузным внутрисосудистым свертыванием крови.

Заключение. Полученные результаты обосновывают необходимость лабораторного контроля системы гемостаза и активной профилактики тромботических осложнений, включая ограничение системной воспалительной реакции, при COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, коагулопатия, тромбодинамика, воспаление

Для цитирования: Евтюгина Н.Г., Санникова С.С., Пешкова А.Д., Сафиуллина С.И., Андрианова И.А., Тарасова Г.Р., Хабирова А.И., Румянцев А.Г., Атауллаханов Ф.И., Литвинов Р.И. Особенности нарушения системы свертывания крови у больных COVID-19. Терапевтический архив. 2021;93(11):1255–1263. DOI: 10.26442/00403660.2021.11.201185

Информация об авторах / Information about the authors

✉**Евтюгина Наталья Геннадьевна** – мл. науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ. Тел.: +7(917)279-30-91; e-mail: natalja.evtugyna@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4950-3691

Санникова Светлана Сергеевна – врач ГАУЗ ГКБ №16. ORCID: 0000-0002-0668-1877

Пешкова Алина Дмитриевна – канд. биол. наук, науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ. ORCID: 0000-0002-8790-1818

Сафиуллина Светлана Ильдаровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ, врач-гематолог Медицинского центра «Айболит». ORCID: 0000-0003-4657-0140

Андрианова Изабелла Александровна – канд. биол. наук, науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ. ORCID: 0000-0003-3973-3183

Тарасова Гульзада Рафаиловна – врач клиники ФГАОУ ВО КФУ. ORCID: 0000-0003-3599-1599

Хабирова Алина Ильшатовна – мл. науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ. ORCID: 0000-0002-7243-8832

Румянцев Александр Григорьевич – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., президент ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева». ORCID: 0000-0002-1643-5960

Атауллаханов Фазоил Иноятович – чл.-кор. РАН, д-р биол. наук, проф., науч. рук. ФГБУН ЦТП ФХФ РАН, зав. отд. биофизики и системной биологии и лабораторией биофизики ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева». ORCID: 0000-0002-6668-0948

Литвинов Рустем Игоревич – д-р мед. наук, проф., гл. науч. сотр. Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ. ORCID: 0000-0003-0643-1496

✉**Natalia G. Evtugina.** E-mail: natalja.evtugyna@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4950-3691

Svetlana S. Sannikova. ORCID: 0000-0002-0668-1877

Alina D. Peshkova. ORCID: 0000-0002-8790-1818

Svetlana I. Safiullina. ORCID: 0000-0003-4657-0140

Izabella A. Andrianova. ORCID: 0000-0003-3973-3183

Gulzada R. Tarasova. ORCID: 0000-0003-3599-1599

Alina I. Khabirova. ORCID: 0000-0002-7243-8832

Aleksandr G. Rumyantsev. ORCID: 0000-0002-1643-5960

Fazoil I. Ataulakhanov. ORCID: 0000-0002-6668-0948

Rustem I. Litvinov. ORCID: 0000-0003-0643-1496

Peculiarities of blood coagulation disorders in patients with COVID-19

Natalia G. Evtugina¹, Svetlana S. Sannikova², Alina D. Peshkova¹, Svetlana I. Safiullina^{1,3}, Izabella A. Andrianova¹, Gulzada R. Tarasova¹, Alina I. Khabirova¹, Aleksandr G. Rumyantsev⁴, Fazoil I. Ataullakhanov^{4,5}, Rustem I. Litvinov¹

¹Kazan Federal University, Kazan, Russia;

²City Hospital №16, Kazan, Russia;

³Medical Center "Aibolit", Kazan, Russia;

⁴Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia;

⁵Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To study the relationship of hemostatic disorders with inflammation and estimate their role in the course and outcomes of COVID-19.

Materials and methods. We examined 215 consecutive patients with moderate and severe forms of acute COVID-19. The patients were on anticoagulants and immunosuppressive drugs. Hemostasis was assessed using the thrombodynamics assay, thromboelastography, fibrinogen and D-dimer levels, prothrombin time, and soluble fibrin-monomer complexes (ethanol gelation test). The hemostatic parameters were correlated with hematological and biochemical tests, including markers of inflammation (C-reactive protein, interleukins 6 and 8), as well as with the disease severity and outcomes.

Results. Laboratory signs of coagulopathy were revealed in the vast majority of the cases. Despite the use of low-molecular-weight heparins in the prophylactic and therapeutic doses, coagulopathy in COVID-19 manifested predominantly as hypercoagulability that correlated directly with the systemic inflammation and metabolic changes due to liver and kidney dysfunction. A direct relationship was found between the grade of coagulopathy and the severity of COVID-19, including comorbidities and the mortality. The chronometric hypocoagulability observed in about 1/4 cases was associated with a high level of C-reactive protein, which may decelerate coagulation *in vitro* and thereby mask the true inflammatory thrombophilia. Persistent hyperfibrinogenemia and high D-dimer in the absence of consumption coagulopathy suggest the predominance of local and/or regional microthrombosis over disseminated intravascular coagulation.

Conclusion. The results obtained substantiate the need for laboratory monitoring of hemostasis and active prophylaxis and treatment of thrombotic complications in COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, coagulopathy, thrombodynamics, inflammation

For citation: Evtugina NG, Sannikova SS, Peshkova AD, Safiullina SI, Andrianova IA, Tarasova GR, Khabirova AI, Rumyantsev AG, Ataullakhanov FI, Litvinov RI. Peculiarities of blood coagulation disorders in patients with COVID-19. *Terapevticheskiy Arkhiv* (Ter. Arkh.). 2021;93(11):1255–1263. DOI: 10.26442/00403660.2021.11.201185

Введение

Заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2 и возникшее в конце 2019 г., получило название COVID-19 и приняло характер пандемии. Несмотря на большое число исследований, результаты лечения COVID-19 остаются неудовлетворительными главным образом из-за недостатка сведений о патогенезе заболевания, который отличается от известных инфекций.

Вирус SARS-CoV-2 прямо или косвенно поражает разные органы и системы, включая систему гемостаза [1]. Внутрисосудистое тромбообразование является важнейшим патогенетическим механизмом COVID-19, что послужило основанием для тромбопрофилактики низкомолекулярными гепаринами (НМГ) [2–4]. Антикоагулянтная терапия существенно снизила летальность [5], что подтверждает важность тромбозов в патофизиологии COVID-19. Кроме того, показатели гемостаза приобрели прогностическое значение, стали критерием эффективности лечения [6], а высокие уровни фибриногена и D-димера – показанием для антикоагулянтной терапии при COVID-19 [7].

Несмотря на доказанную роль коагулопатий в патогенезе COVID-19, их связь с воспалением, клиническим течением и исходами заболевания остается во многом неясной. Какова роль системного воспаления и его медиаторов в инициации гиперкоагуляции и поддержании высокого тромботического потенциала? Есть ли корреляция между гиперкоагуляцией и тяжестью заболевания? Есть ли связь между тромботическим потенциалом и летальными исходами болезни, особенно на фоне гепаринотерапии? Насколько информативны гемостатические тесты и как велико их клиническое значение? Ответы на эти и другие вопросы составляют цель и задачи настоящей работы.

Материалы и методы

Характеристика клинического материала

Обследованы пациенты с диагнозом COVID-19, поступившие в COVID-госпиталь на базе ГАУЗ «Городская клиническая больница №16» г. Казани. Исследование проводили согласно разрешению этического комитета Казанского федерального университета (протокол №24 от 22.09.2020). Обследованы 215 пациентов в возрасте от 37 до 92 лет (средний возраст 68 лет). Критерии включения: возраст старше 18 лет; диагноз COVID-19 по данным полимеразной цепной реакции; состояние средней тяжести или тяжелое [8]; наличие инфильтратов в легких по данным компьютерной томографии.

Лечение проводилось в соответствии с Временными рекомендациями Минздрава России [8]. НМГ в стандартной профилактической, высокой профилактической или лечебной дозах получали 92% пациентов [7]. Взятие крови проводилось натощак перед очередным подкожным введением НМГ, т.е. на фоне остаточного эффекта НМГ.

Характеристика пациентов дана в **табл. 1**. Контрольную группу составили 40 здоровых доноров – 19 (48%) мужчин и 21 (52%) женщина в возрасте от 60 до 87 лет (средний возраст 67 лет). Основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Получение крови и ее компонентов

Кровь стабилизировали 3,2% цитратом натрия (9:1). Бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием при 2000g 10 мин, бестромбоцитную плазму – центрифугированием при 1600g 15 мин и при 10 000g 5 мин. Сыворотку получали силикатным активатором, для гематологического анализа кровь стабилизировали К3-этилендиаминтетрацетатом. Кровь использовали не позднее 4 ч после взятия.

Таблица 1. Демографические и клинические характеристики пациентов с COVID-19, включенных в исследование
Table 1. Demographic and clinical characteristics of the COVID-19 patients included in the study

Клинические характеристики		Число пациентов (n=215), абс. (%)
Пол	Мужчины	100 (48)
	Женщины	115 (52)
Возраст, лет	<65	75 (35)
	≥65	140 (65)
Степень тяжести заболевания	Среднетяжелая	160 (74)
	Тяжелая	55 (26)
Степень поражения легких (компьютерная томография)	1-я	43 (20)
	1–2-я	101 (47)
	3–4-я	71 (33)
Длительность заболевания на момент обследования	<7 дней от начала заболевания	17 (8)
	7–14 дней от начала заболевания	88 (41)
	>14 дней от начала заболевания	109 (51)
Исход заболевания	Благоприятный	199 (93)
	Летальный	16 (7)
<i>Сопутствующие заболевания и факторы риска тромбозов</i>		
Гемобластозы		8 (4)
Гипертоническая болезнь		118 (59)
Сахарный диабет		50 (25)
Ишемическая болезнь сердца		41 (21)
Острый инфаркт миокарда		18 (9)
Острые нарушения мозгового кровообращения		24 (12)
Тромбофлебит сосудов нижних конечностей		10 (5)
Курение		12 (6)
Ожирение (индекс массы тела >30 кг/м ²)		68 (34)
<i>Лечение</i>		
НМГ (дозы по [7])	Профилактическая доза	100 (47)
	Высокая профилактическая и лечебная дозы	98 (46)
Глюкокортикостероиды (дексаметазон, метилпреднизолон, преднизолон)		204 (95)
Ингибитор ИЛ-6 (тоцилизумаб)		5 (2)
Противовирусные препараты (Ингавирин, Арбидол)		59 (30)
Муколитики (АЦЦ, амброксол)		112 (56)
Гидроксихлорохин (Плаквенил)		82 (41)
Искусственная вентиляция легких		11 (6)

Кинетику направленного формирования сгустка в плазме крови (тромбодинамика) изучали как описано ранее [9].

Тромбоэластография, коагулограмма, гематологические и биохимические исследования

В кювете TEG 5000 в плазму добавляли каолин и CaCl₂ и определяли R – время от инициации свертывания до начала образования фибрина, K – время увеличения амплитуды тромбоэластографии (ТЭГ) до 20 мм, α – угол наклона кривой, MA – максимальную амплитуду. Коагулограмма включала протромбиновое время (ПВ) и международное нормализованное отношение (МНО), концентрацию фибриногена по Клауссу и D-димер. Растворимые комплексы фибрин-мономера (РКФМ) обна-

руживали этаноловым тестом [10]. Использовали гематологический анализатор BC-3600 (Mindray, Китай) и биохимический анализатор BS-200E (Mindray, Китай). Интерлейкины (ИЛ) в сыворотке крови определяли наборами АО «Вектор-Бест» (Россия).

Статистический анализ

Используя пакеты GraphPad Prism 8 и RStudio, парные сравнения осуществляли с помощью теста Манна–Уитни, а для многофакторного анализа применяли тест Краскела–Уоллиса с последующим тестом Данна. Корреляционный анализ проводился методом Спирмена. Для категориальных признаков использовали χ²-критерий. Уровень статистической значимости 95% (p<0,05).

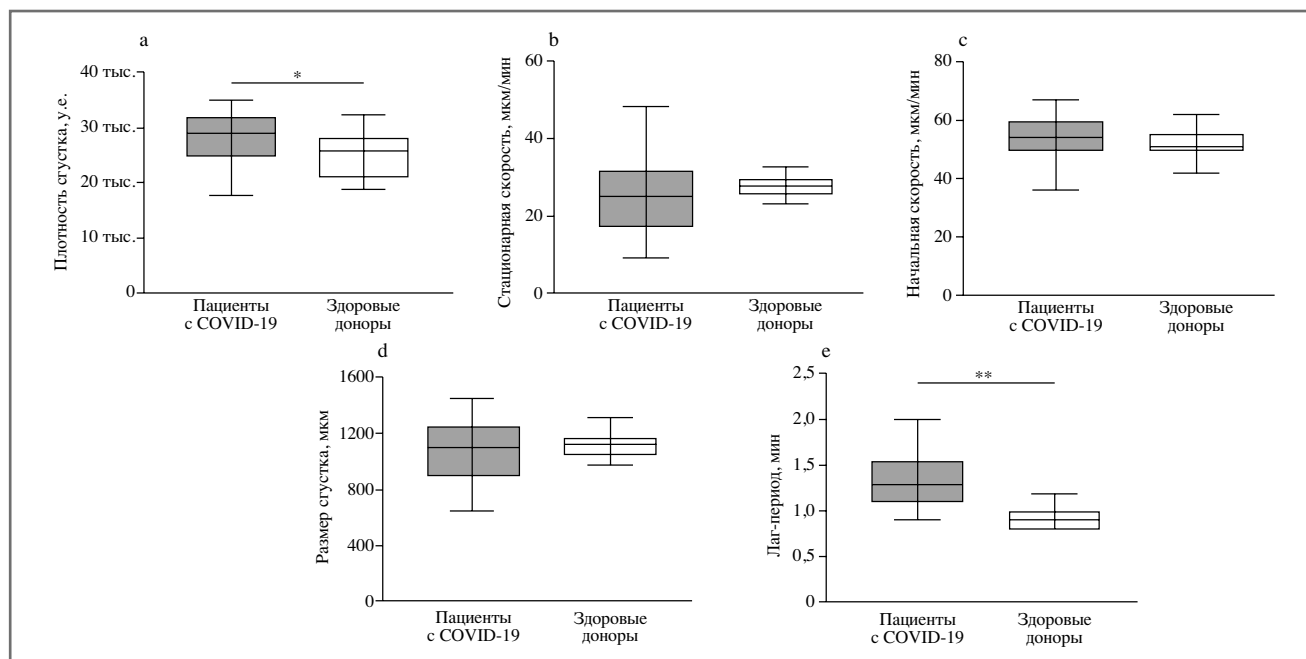


Рис. 1. Параметры тромбодинамики у пациентов с COVID-19 (n=215) и здоровых доноров (n=20):
 a – оптическая плотность сгустка роста сгустка, b – стационарная скорость, c – начальная скорость роста сгустка, d – размер сгустка, e – лаг-период.

Здесь и далее в табл. 2, 3, 5: результаты представлены в виде медианы и ИКР (25; 75-й процентиль).
 *p<0,01; **p<0,001, критерий Манна–Уитни.

Fig. 1. Parameters of thrombodynamics in COVID-19 patients (n=215) and healthy donors (n=20):
 a – the optical density of clot growth rate, b – the stationary clot growth rate, c – the initial clot growth rate, d – clot size, e – lag time.
 Hereinafter in tables 2, 3, 5: results are presented as a median and interquartile range (25 and 75th percentiles).
 *p<0.01; **p<0.001, Mann–Whitney U-test.

Результаты

Тромбодинамика у пациентов с COVID-19

По данным тромбодинамики у пациентов с COVID-19 в сравнении с контролем обнаружено увеличение оптической плотности сгустка (рис. 1, а, табл. 2, раздел А), обусловленное гиперфибриногенемией. Так, если при уровне фибриногена <4 г/л медиана плотности сгустка была 24 401 у.е. (интерквартильный размах – ИКР 21 298–27 521), то при значениях >4 г/л оптическая плотность сгустка возрастала до 30 454 у.е. (ИКР 27 709–32 591; p<0,001), что указывает на прямую зависимость оптических свойств сгустка от содержания фибрин(огена).

У 15% пациентов на 10–30-й минуте после рекальцификации появлялись спонтанные сгустки, что свидетельствует о гиперкоагуляции. При этом у больных нет достоверных различий с контролем по хронометрическим параметрам тромбодинамики (см. рис. 1, b и c, табл. 2, раздел А) размеру сгустка (см. рис. 1, d, табл. 2, раздел А) и даже, напротив, наблюдается увеличение лаг-периода (см. рис. 1, e, табл. 2, раздел А), которое согласуется с удлинением ПВ и ростом МНО (табл. 3).

Связь тромбодинамики с клиническим течением COVID-19

Показатели тромбодинамики отличались в зависимости от тяжести и исходов заболевания. При летальных исходах наблюдалось снижение начальной и стационарной скорости роста сгустка и уменьшения его размера (см. табл. 2, раздел Б). При тяжелом течении наблюдалось уменьшение размеров сгустка по сравнению со среднетяжелым течением (см. табл. 2, раздел В). Следовательно, при тяже-

лой форме COVID-19, и особенно при неблагоприятном исходе, показатели тромбодинамики меняются в сторону гипокоагуляции. Это можно объяснить тем, что при выраженном воспалении в крови выше уровень С-реактивного белка (СРБ) и антифосфолипидных антител (АФА), которые замедляют свертывание крови *in vitro* [11, 12].

Результаты тромбодинамики зависели от сопутствующих заболеваний. Так, на фоне гемобластозов достоверно увеличены начальная и стационарная скорость роста сгустка и его размер (см. табл. 2, раздел Г), что указывает на более выраженную гиперкоагуляцию, чем при изолированной инфекции COVID-19.

Связь тромбодинамики с лабораторными признаками воспаления

Обнаружена положительная корреляция оптической плотности сгустка с маркерами системного воспаления, такими как уровень фибриногена, СРБ и СОЭ, а размер сгустка положительно коррелировал с количеством моноцитов в крови (табл. 4). Обнаружена прямая корреляция между уровнем ИЛ-8 в крови с начальной скоростью и размером сгустка. Повышенный уровень ИЛ-8 в крови сочетался с большей начальной скоростью роста сгустка с медианой 54,4 мкм/мин (ИКР 51,3–58,8) против медианы 49,2 мкм/мин (ИКР 43,5–52,5; p=0,005) при нормальных значения ИЛ-8 (<10 пг/мл).

Увеличение концентрации СРБ>10 мг/л, которое свидетельствует об остром воспалительном процессе, сочетается с уменьшением начальной и стационарной скорости роста сгустка и его размера, а также удлинением лаг-периода (см. табл. 2, раздел Д), т.е. с признаками хрономе-

Таблица 2. Параметры тромбодинамики у пациентов с COVID-19**Table 2. Parameters of thrombodynamics in the COVID-19 patients**

Группы и подгруппы сравнения	Параметры тромбодинамики				
	Стационарная скорость, мкм/мин	Лag-период, мин	Начальная скорость, мкм/мин	Размер сгустка, мкм	Оптическая плотность сгустка, у.е.
<i>А. Пациенты с COVID-19 и здоровые доноры</i>					
Пациенты (n=200)	25 (18; 32)	1,3 (1,1; 1,6)***	54 (50; 60)	1103 (901; 1253)	29 054 (24 911; 32 759)**
Доноры (n=20)	28 (26; 30)	0,9 (0,8; 1,0)	51 (50; 55)	1122 (1057; 1175)	25 764 (21 020; 28 266)
<i>Б. Зависимость от исхода заболевания</i>					
Благоприятный исход (n=184)	25,3 (18,2; 32,1)	1,3 (1,1; 1,5)	54,7 (49,9; 59,8)	1108 (917; 1279)	28 962 (24 756; 31 617)
Летальный исход (n=16)	20,1* (15,4; 25,2)	1,3 (1,1; 1,7)	50,2 (45,1; 53,2)*	910 (871; 1055)**	32 047 (28 315; 34 798)*
<i>В. Зависимость от тяжести заболевания</i>					
Среднетяжелая форма (n=149)	25,5 (18,0; 32,2)	1,3 (1,1; 1,5)	54,9 (49,9; 59,7)	1130 (909; 1288)	29 004 (25 168; 31 518)
Тяжелая форма (n=51)	25,5 (18,0; 32,2)	1,3 (1,2; 1,6)	52,2 (49,2; 57,8)	985 (881; 1118)**	29 481 (24 099; 32 768)
<i>Г. Зависимость от наличия сопутствующих гемобластозов</i>					
Есть гемобластозы (n=8)	32,3 (24,9; 35,8)*	1,1 (0,9; 1,3)	66,4 (55,8; 68,4)**	1364 (1109; 1449)**	26 131 (24 366; 29 378)
Нет гемобластозов (n=207)	24,9 (17,0; 31,4)	1,3 (1,1; 1,6)	53,9 (49,3; 59,6)	1098 (894; 1238)	29 068 (24 982; 31 860)
<i>Д. Зависимость от уровня СРБ в сыворотке крови</i>					
<10 мг/л (n=23)	32,1 (21,2; 36,5)*	1,1 (1,0; 1,2)**	61,3 (50,9; 66,5)**	1276 (930; 1408)*	27 019 (23 249; 29 665)**
>10 мг/л (n=114)	23,9 (17,6; 28,7)	1,3 (1,1; 1,5)	54,0 (49,8; 58,9)	1082 (917; 1183)	30 367 (26 438; 32 593)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, критерий Манна–Уитни.**Таблица 3. Параметры ТЭГ и рутинные показатели гемостаза у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми донорами****Table 3. Thromboelastography and routine laboratory hemostasis parameters in COVID-19 patients and healthy donors**

Показатели	Пациенты с COVID-19 (n=215)	Здоровые доноры (n=40)
Параметры ТЭГ		
R, мин	5,8 (4,8; 6,8)***	4 (3,5; 4,3)
K, мин	0,9 (0,8; 1,2)***	2,2 (1,3; 4,4)
Угол α°	75,6 (70,2; 78,2)	74,3 (72,1; 76,2)
MA, мм	38,6 (33,5; 44,5)***	22,7 (20,4; 25,9)
Фибриноген, г/л	5,1 (3,7; 5,9)*	4,0 (3,4; 4,5)
D-димер, нг/мл	709 (431; 1545)***	223 (149; 406)
ПВ, с	12,0 (11,0; 13,5)***	11,0 (10,6; 11,3)
МНО	1,02 (0,99; 1,08)**	0,97 (0,94; 1,04)
РКФМ (положительный этаноловый тест)	20%	0
Количество тромбоцитов в крови, $\times 10^9$ /л	225 (158; 292)*	247 (220; 300)

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$, критерий Манна–Уитни.

Таблица 4. Корреляционный анализ параметров тромбодинамики с другими лабораторными показателями (достоверные значения коэффициента Спирмена)

Table 4. Correlation analysis of the parameters of thrombodynamics and other laboratory parameters (significant Spearman's coefficient)

Сопоставляемые лабораторные показатели	Параметры тромбодинамики				
	Лаг-период	Начальная скорость	Стационарная скорость	Размер сгустка	Оптическая плотность сгустка
ПВ	-0,41**	–	-0,33*	-0,38**	–
СОЭ	–	–	–	–	0,48***
Количество моноцитов	–	–	–	0,21**	–
АСТ	–	–	–	–	0,31***
Общий белок	0,26**	–	–	–	–
СРБ	0,24**	–	–	–	0,26**
ИЛ-8	–	0,31**	–	0,25*	–

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

трической гипокоагуляции. Это совпадает с тем, что СРБ, особенно на фоне гепаринотерапии [13], замедляет свертывание *in vitro*, связывая и блокируя прокоагулянтные фосфолипиды [14]. Одновременно с ростом СРБ >10 мг/л возрастает оптическая плотность сгустка, отражая гиперпродукцию фибриногена, синтез которого, как и СРБ, стимулируется ИЛ-6 [15]. Приведенные результаты указывают на связь гиперкоагуляции и воспаления у пациентов с COVID-19, подтверждая информативность теста тромбодинамики как интегрального метода, который чувствителен к коагулопатиям, в том числе обусловленным системным воспалением.

Связь гемостатических тестов с тяжестью заболевания и другими проявлениями COVID-19

По данным ТЭГ у пациентов с COVID-19 замедлено время реакции (R), которое аналогично тесту активированного частичного тромбопластинового времени (рис. 2, табл. 3), что соответствует замедлению лаг-периода в тесте тромбодинамики (см. табл. 2, раздел А). Одновременно ускорена полимеризация фибрина (K) и увеличена прочность сгустка (MA) как следствие гиперфибриногенемии (см. рис. 2, табл. 3). Замедление свертывания более выражено у пациентов с неблагоприятным исходом (медиана 6,7 мин, ИКР 6–7,2), чем у выживших (медиана 5,7 мин, ИКР 4,8–6,8; $p = 0,006$).

Рутинные тесты выявили повышение уровней фибриногена, D-димера и удлинение ПВ/увеличение МНО (см. табл. 3).

Уровень фибриногена, белка острой фазы, положительно коррелировал с СОЭ ($r = 0,47$; $p < 0,0001$) и уровнем СРБ ($r = 0,26$; $p = 0,004$). Кроме того, содержание фибриногена прямо коррелировало с уровнем аспаргатаминотрансферазы – АСТ ($r = 0,21$; $p = 0,01$), а также с количеством тромбоцитов ($r = 0,25$; $p = 0,001$), средним объемом эритроцита ($r = 0,28$; $p = 0,012$) и содержанием гемоглобина в эритроците ($r = 0,22$; $p = 0,043$), что указывает на общие воспалительные стимуляторы синтетической функции печени и гемопоэза, например ИЛ-6.

Повышение D-димера связано с тяжестью заболевания. Так, при средней степени тяжести медиана D-димера была 671 нг/мл (ИКР 414–1250), а при тяжелой форме – 1134 нг/мл (ИКР 502–2111; $p = 0,018$), что значительно превышает верх-

ний предел нормы (500 нг/мл). Уровень D-димера слабо, но достоверно положительно коррелировал с общим количеством лейкоцитов ($r = 0,14$; $p = 0,048$), включая нейтрофилы ($r = 0,22$; $p = 0,002$) и лимфоциты ($r = 0,25$; $p = 0,0005$), что отражает связь внутри- или внесосудистого фибринообразования и системного воспаления. Содержание D-димера находилось в обратной зависимости от уровня гемоглобина ($r = -0,23$; $p = 0,002$), гематокрита ($r = -0,21$; $p = 0,004$) и количества эритроцитов ($r = -0,25$; $p = 0,0005$), указывая на патогенетическую связь коагулопатии, анемии и воспаления.

Этаноловый тест (на РКФМ) был положительным у 20% пациентов с преобладанием у тяжелых (33%) больных по сравнению со среднетяжелыми (16%; $p = 0,006$).

Для пациентов с COVID-19 была характерна умеренная тромбоцитопения (см. табл. 3), которая редко опускалась ниже $100 \times 10^9/л$ и не имела клинических проявлений в виде геморрагического диатеза.

Воспалительные и метаболические изменения при COVID-19

Уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 были повышены, несмотря на противовоспалительную терапию глюкокортикостероидами и тоцилизумабом – специфическим ингибитором ИЛ-6 (см. табл. 1).

Почти у 20% пациентов концентрация ИЛ-6 была выше нормы (>10 пг/мл) и колебалась от 10 до 337 пг/мл (медиана 57 пг/мл, ИКР 22–231). Уровень ИЛ-6 у пациентов с тяжелым течением (медиана 106 пг/мл, ИКР 11–233) был намного выше, чем у пациентов со средней тяжестью (медиана 11 пг/мл, ИКР 1,2–43; $p = 0,035$). ИЛ-6 положительно коррелировал с D-димером ($r = 0,32$; $p = 0,005$), но находился в обратной зависимости от гемоглобина ($r = -0,35$; $p = 0,003$), гематокрита ($r = -0,36$; $p = 0,002$), количества тромбоцитов ($r = -0,25$; $p = 0,038$) и уровня общего белка в крови ($r = -0,29$; $p = 0,029$), подтверждая воспалительную природу анемии.

Повышенный уровень ИЛ-8 (>10 пг/мл) выявлен у 77% обследованных и колебался от 10 до 280 пг/мл (медиана 72 пг/мл, ИКР 49–139). Концентрация ИЛ-8 прямо коррелировала с количеством лейкоцитов ($r = 0,27$; $p = 0,029$) и находилась в выраженной обратной зависимости от количества эозинофилов ($r = -0,76$; $p = 0,028$), вероятно, из-за адгезии эозинофилов на эндотелии под действием ИЛ-8 [16] и/или миграции эозинофилов в ткани по градиенту концен-

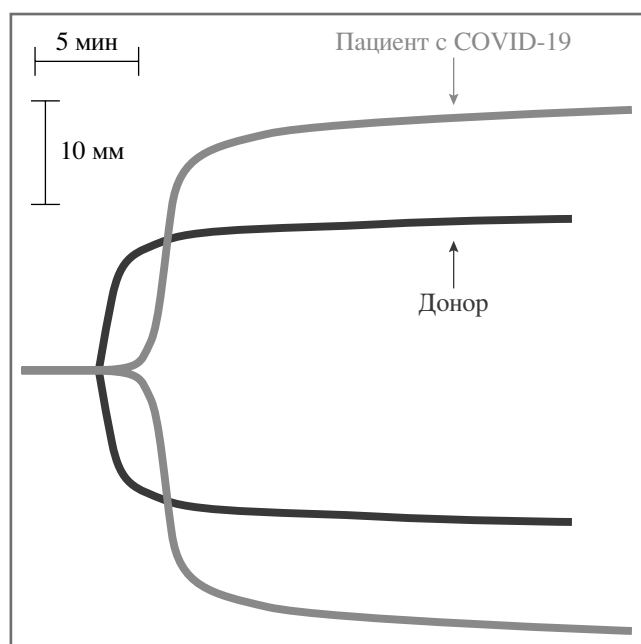


Рис. 2. Типичные тромбозаграммы (ТЭГ) пациента с COVID-19 и здорового донора, иллюстрирующие замедление свертывания плазмы крови и увеличение прочности сгустка при COVID-19.

Fig. 2. Characteristic thromboelastograms (TEGs) of a COVID-19 patient and a healthy donor, illustrating the decelerated clotting and an increase in the clot strength in the COVID-19 plasma sample.

трации хемокина [17]. Пациенты с повышенным уровнем ИЛ-8 имели более высокий D-димер (медиана 882 нг/мл, ИКР 456–1719) по сравнению с пациентами, у которых уровень ИЛ-8 был нормальным (медиана 586 нг/мл, ИКР 293–831; $p=0,041$).

Биохимические анализы пациентов выявили достоверные отличия от здоровых (табл. 5), которые свидетельствуют о вовлеченности в патологический процесс печени и почек.

Обсуждение

Исследование посвящено гемостатическим расстройствам при COVID-19 в сопоставлении с течением и исходами заболевания, а также с лабораторными признаками воспаления и метаболических нарушений. Важно, что пациенты обследованы на фоне антикоагулянтной и противовоспалительной терапии, которая сгладила лабораторные и клинические симптомы. Несмотря на это, результаты подтверждают, что COVID-19 сопровождается коагулопатией, выраженность которой коррелирует с признаками системного воспаления и органной дисфункции.

Для выявления гемостатических нарушений наряду с традиционными показателями использовали тест тромбодинамики [18], чувствительный как к гипер-, так и к гипокоагуляции [19], включая антикоагулянтную терапию [9, 20].

Коагулопатия при COVID-19 протекает преимущественно по типу гиперкоагуляции. Этот вывод основан на повышении уровня D-димера в крови; выраженной и стойкой гиперфибриногенемии; наличии в крови РКФМ; образовании спонтанных сгустков в тесте тромбодинамики; ускорении полимеризации и увеличении прочности сгустков на ТЭГ. Эти лабораторные сдвиги свидетельствуют о внутрисосудистой активации системы гемостаза даже на

Таблица 5. Биохимические параметры у пациентов с COVID-19 в сравнении со здоровыми донорами

Table 5. Biochemical tests in COVID-19 patients and healthy donors

Параметры (в скобках указаны референсные значения)	Пациенты с COVID-19 (n=215)	Здоровые доноры (n=40)
Общий билирубин (5,0–20,5), мкмоль/л	9,9 (8,6; 11,8)*	8,0 (5,9; 10,0)
Аланинаминотрансфераза (4–40), ЕД/л	34 (21; 54)*	18 (13; 26)
АСТ (4–35), ЕД/л	27 (19; 36)*	18 (14; 20)
Белок общий (66–83), г/л	66 (60; 70)*	73 (70; 76)
Мочевина (2,8–8,0), ммоль/л	6,9 (5,6; 9,5)*	4,3 (3,6; 5,3)
Креатинин (44–106), мкмоль/л	75 (64; 90)*	86 (76; 97)
Глюкоза (3,9–6,4), ммоль/л	7,2 (5,6; 9,0)*	5,2 (4,8; 5,5)

* $p<0,0001$, критерий Манна–Уитни.

фоне применения антикоагулянтов. Поскольку D-димер образуется исключительно из фибрина, стабилизированного фактором XIIIa, высокий уровень D-димера указывает на внутрисосудистое отложение фибрина, локальное или распространенное [21].

У некоторых больных наблюдалась парадоксальная гипокоагуляция, которая в отличие от лабораторных признаков гиперкоагуляции имела хронометрический характер. При этом замедление свертывания отчетливо связано с высоким уровнем в крови СРБ (см. табл. 2, раздел Д). Поскольку СРБ обладает антикоагулянтной активностью, связывая прокоагулянтные фосфолипиды [14, 22], он может замедлять свертывание *in vitro*. Так же действуют АФА, образующиеся при COVID-19 [23], которые вызывают гипокоагуляцию [24], хотя *in vivo* провоцируют тромбоз, активируя эндотелиоциты и моноциты [25]. Возможно, при выраженном воспалении замедление свертывания отражает высокий уровень СРБ [14] и/или АФА [23], которые маскируют истинную гиперкоагуляцию. Это означает, что хронометрическая гипокоагуляция при COVID-19 не должна препятствовать применению антикоагулянтов.

На связь тромбофилии при COVID-19 с воспалением указывает корреляция коагулопатии с гиперпродукцией ИЛ-6, ИЛ-8, фибриногена, СРБ, нейтрофилезом и моноцитозом. Известно, что цитокиновый шторм ведет к развитию имунотромбоза с использованием разных механизмов [26–28]. Например, избыток ИЛ-6 индуцирует экспрессию тканевого фактора на моноцитах, макрофагах и эндотелиоцитах, а фактор некроза опухоли α и ИЛ-1 способны подавлять активность антикоагулянтов [29]. Существуют и другие механизмы положительной обратной связи между воспалением и протромботическими изменениями [30], включая такой специфический механизм, как дисфункция ренин-ангиотензиновой системы в результате связывания вируса SARS-CoV-2 с ферментом ACE2 [31].

Тяжесть течения и исходы заболевания также оказались тесно связаны с лабораторными признаками нарушений гемостаза, что позволяет считать коагулопатию важным патогенетическим фактором, который вносит существенный вклад в клиническую картину COVID-19.

Нужно отметить, что наблюдаемые нами гиперфибриногенемия, умеренная тромбоцитопения и незначительное замедление свертывания не дают оснований для вывода о коагулопатии потребления и синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Очевидно, при среднетяжелом и тяжелом, но не критическом состоянии пациентов повышение уровня D-димера в крови является признаком локального или регионального микротромбоза с реактивным фибринолизом. Если синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания и развивается при COVID-19, то в предтерминальной стадии в сочетании с прогрессирующей полиорганной недостаточностью [8].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Благодарности. Авторы выражают благодарность компании ООО «ГемаКор» (Москва) за предоставление реактивов и расходных материалов, а также регистратора тромбодинамики, использованного в данной работе.

Acknowledgments. We thank the HemaCore Ltd. Company (Moscow) for providing reagents and supplies as well as the Thrombodynamics Analyzer System used in this study.

Финансирование. Работа выполнена за счет программы стратегического академического лидерства ФГАОУ ВО КФУ и грантов Российского фонда фундаментальных исследований 19-015-00075, 18-415-160004 и Российского научного фонда 21-45-00012, 21-75-00010.

Funding source. This work was supported by the Strategic Academic Leadership (Priority 2030) at the Kazan Federal University's Program, and the Russian Foundation for Basic Research grants 19-015-00075, 18-415-160004, 20-015-00257, and the Russian Science Foundation grants 21-45-00012, 21-75-00010.

Список сокращений

АСТ – аспаргатаминотрансфераза
АФА – антифосфолипидные антитела
ИКР – интерквартильный размах
ИЛ – интерлейкин
МНО – международное нормализованное отношение

НМГ – низкомолекулярный гепарин
ПВ – протромбиновое время
РКФМ – растворимый комплекс фибрин-мономера
СРБ – С-реактивный белок
ТЭГ – тромбозластография

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tal S, Spectre G, Kornowski R, Perl L. Venous Thromboembolism Complicated with COVID-19: What Do We Know so Far? *Acta Haematol.* 2020;143(5):417-24. DOI:10.1159/000508233
2. Лобастов К.В., Счастлищев И.В., Порембская О.Я., и др. COVID-19-ассоциированная коагулопатия: обзор современных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике. *Амбулаторная хирургия.* 2020;(3-4):36-51 [Lobastov KV, Schastlivtsev IV, Poremskaya OYa, et al. COVID-19-associated coagulopathy: review of current recommendations for diagnosis, treatment and prevention. *Ambulatory surgery.* 2020;(3-4):36-51 (in Russian)]. DOI:10.21518/1995-1477-2020-3-4-36-51
3. Арутюнов Г.П., Козиолова Н.А., Тарловская Е.И., и др. Согласованная позиция экспертов Евразийской ассоциации терапевтов по некоторым новым механизмам патогенеза COVID-19: фокус на гемостаз, вопросы гемотрансфузии и систему транспорта газов крови. *Кардиология.* 2020;60(5):9-19 [Arutyunov GP, Koziołova NA, Tarlovskaya EI, et al. The Agreed Experts' Position of the Eurasian Association of Therapists on Some new Mechanisms of COVID-19 Pathways: Focus on Hemostasis, Hemotransfusion Issues and Blood gas Exchange. *Kardiologiia.* 2020;60(5):9-19 (in Russian)]. DOI:10.18087/cardio.2020.5.n1132
4. Явелов И.С., Драпкина О.М. COVID-19: состояние системы гемостаза и особенности анти тромботической терапии. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020;19(3):2571 [Yavelov IS, Drapkina OM. COVID-19: hemostatic parameters and specifics of antithrombotic treatment. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2020;19(3):2571 (in Russian)]. DOI:10.15829/1728-8800-2020-2571
5. Paranjpe I, Fuster V, Lala A, et al. Association of Treatment Dose Anticoagulation With In-Hospital Survival Among Hospitalized Patients With COVID-19. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(1):122-4. DOI:10.1016/j.jacc.2020.05.001
6. Thachil J, Tang N, Gando S, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(5):1023-6. DOI:10.1111/jth.14810
7. Сафиуллина С.И., Литвинов Р.И. Рекомендации по профилактике и коррекции тромботических осложнений при COVID-19. *Казанский медицинский журнал.* 2020;101(4):485-8 [Safiullina SI, Litvinov RI. Recommendations for the prevention and correction of thrombotic complications in COVID-19. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2020;101(4):485-8 (in Russian)]. DOI:10.17816/KMJ2020-485
8. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Министерство здравоохранения РФ. Версия 9 (26.10.2020). Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf?1603730062. Ссылка активна на 18.11.2020 [Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of the new coronavirus infection (COVID-19). Ministry of Health of the Russian Federation. Version 9 (26.10.2020). Available at: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/052/548/original/%D0%9C%D0%A0_COVID-19_%28v.9%29.pdf?1603730062. Accessed: 18.11.2020 (in Russian)].
9. Sinauridze EI, Vuimo TA, Tarandovskiy ID, et al. Thrombodynamics, a new global coagulation test: Measurement of heparin efficiency. *Talanta.* 2018;180:282-91. DOI:10.1016/j.talanta.2017.12.055
10. Breen FA Jr, Tullis JL. Ethanol gelation test improved. *Ann Intern Med.* 1969;71(2):433-4. DOI:10.7326/0003-4819-71-2-433_2
11. Bowles L, Platton S, Yartey N, et al. Lupus Anticoagulant and Abnormal Coagulation Tests in Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;383(3):288-90. DOI:10.1056/nejmc2013656
12. Van Rossum AP, Vlasveld LT, van den Hoven LJM, et al. False prolongation of the activated partial thromboplastin time (aPTT) in inflammatory patients: Interference of C-reactive protein. *Br J Haematol.* 2012;157(3):394-5. DOI:10.1111/j.1365-2141.2011.08990.x
13. Thaker A, Chandler W. Prolongation of PTT by CRP Is Magnified in the Setting of Heparin and Warfarin Therapy. *Am J Clin Pathol.* 2016;147(Suppl. 2):S153. DOI:10.1093/ajcp/aqw191.004
14. Devreese KMJ, Verfaillie CJ, De Bisschop F, Delanghe JR. Interference of C-reactive protein with clotting times. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(5):e141-5. DOI:10.1515/cclm-2014-0906
15. Zlatko D. The Cytokines of the Immune System: The Role of Cytokines in Disease Related to Immune Response. Academic Press; 1st edition (June 16, 2015); 2015.
16. Ulfman LH, Joosten DPH, van der Linden JAM, et al. IL-8 Induces a Transient Arrest of Rolling Eosinophils on Human Endothelial Cells. *J Immunol.* 2001;166(1):588-95. DOI:10.4049/jimmunol.166.1.588
17. Erger RA, Casale TB. Interleukin-8 is a potent mediator of eosinophil chemotaxis through endothelium and epithelium. *Am J Physiol.* 1995;268(1 Pt. 1):L117-22. DOI:10.1152/ajplung.1995.268.1.L117

18. Tuktamyshov R, Zhdanov R. The method of *in vivo* evaluation of hemostasis: Spatial thrombodynamics. *Hematology*. 2015;20(10):584-6. DOI:10.1179/1607845415Y.0000000022
19. Balandina AN, Koltsova EM, Teterina TA, et al. An enhanced clot growth rate before *in vitro* fertilization decreases the probability of pregnancy. *PLoS One*. 2019;14(5):1-19. DOI:10.1371/journal.pone.0216724
20. Balandina AN, Serebriyskiy II, Poletaev AV, et al. Thrombodynamics – A new global hemostasis assay for heparin monitoring in patients under the anticoagulant treatment. *PLoS One*. 2018;13(6):1-18. DOI:10.1371/journal.pone.0199900
21. Bates S. D-dimer assays in diagnosis and management of thrombotic and bleeding disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38(7):673-82. DOI:10.1055/s-0032-1326782
22. Borghi MO, Beltagy A, Garrafa E, et al. Anti-Phospholipid Antibodies in COVID-19 Are Different From Those Detectable in the Anti-Phospholipid Syndrome. *Front Immunol*. 2020;11:584241. DOI:10.3389/fimmu.2020.584241
23. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, et al. Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;382(17):e38. DOI:10.1056/NEJMc2007575
24. Dalal KS, Bridgeman MB. Cardiovascular drugs. *Nursing (Lond)*. 2017;47(11):63. DOI:10.1097/01.nurse.0000524762.35753.23
25. Близнюков О.П., Козмин Л.Д., Мартынов А.И., и др. С-реактивный белок удлиняет время свертывания крови. *Научно-практическая ревматология*. 2003;16-20 [Bliznyukov OP, Kozmin LD, Martynov AI, et al. C-reactive protein lengthens blood clotting time. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2003;16-20 (in Russian)]
26. Wu W, Xie X, Yin W, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506. DOI:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
27. Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J Thromb Haemost*. 2020;18(7):1747-51. DOI:10.1111/jth.14854
28. Nasonov EL, Beketova TV, Reshetnyak TM, et al. Coronavirus disease 2019 (covid-19) and immune-mediated inflammatory rheumatic diseases: At the crossroads of thromboinflammation and autoimmunity. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2020;58(4):353-67. DOI:10.47360/1995-4484-2020-353-367
29. Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-4. DOI:10.1016/S0140-6736(20)30628-0
30. Gu SX, Tyagi T, Jain K, et al. Thrombocytopeny and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation. *Nat Rev Cardiol*. 2020;2. DOI:10.1038/S41569-020-00469-1
31. Sriram K, Insel PA. Inflammation and thrombosis in COVID-19 pathophysiology: Proteinase-activated and purinergic receptors as drivers and candidate therapeutic targets. *Physiol Rev*. 2021;101(2):545-67. DOI:10.1152/physrev.00035.2020

Статья поступила в редакцию / The article received: 12.01.2021

