

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Авторский коллектив .....	6
Список сокращений и условных обозначений .....	9
Предисловие .....	11
<b>Глава 1. COVID-19, воспаление и нарушения гемостаза .....</b>	<b>15</b>
1.1. Введение .....	15
1.2. Механизмы патогенеза сосудистых осложнений при инфекции COVID-19 .....	16
1.3. Внеклеточные ловушки нейтрофилов .....	19
1.3.1. Нейтрофильные внеклеточные ловушки. Определение понятия. Основные характеристики .....	22
1.3.2. Нетоз и его виды .....	23
1.3.3. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и нарушения коагуляции .....	28
1.3.4. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и нарушения фибринолиза .....	34
1.3.5. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и атеротромбоз. ...	38
1.3.6. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в патогенезе рак-ассоциированных тромбозов .....	39
1.3.7. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и осложнения беременности .....	41
1.3.8. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и перинатальные потери .....	42
1.3.9. Нейтрофильные внеклеточные ловушки как маркер синдрома системного воспалительного ответа .....	44
1.3.10. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в патогенезе тромбовоспалительных заболеваний .....	45
1.3.11. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в патогенезе тяжелого течения COVID-19 .....	47
1.3.12. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и антикоагулянты .....	49
1.4. Тромботическая микроангиопатия .....	50
1.4.1. Тромботическая микроангиопатия. История вопроса. Основные характеристики .....	50

1.4.2. Тромботическая микроангиопатия в патогенезе COVID-19 .....	63
1.4.3. Факты, указывающие на участие тромботической микроангиопатии в патогенезе тяжелых форм COVID-19 .....	63
1.4.4. Нейтрофильные внеклеточные ловушки, фактор Виллебранда и ADAMTS-13. ....	66
1.4.5. Подходы к терапии тромботической микроангиопатии у пациентов с COVID-19 .....	68
1.5. Патогенез коагулопатии при COVID-19. Тромботический и цитокиновый шторм .....	74
1.5.1. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания. ....	77
1.5.2. Гиперактивация ренин-ангиотензиновой системы. ....	79
1.5.3. Цитокиновый шторм .....	80
1.5.4. Активация системы комплемента. ....	82
1.5.5. Тромбоцитопатия .....	82
1.5.6. Дисфункция эндотелия .....	86
1.5.7. Нетоз .....	87
1.5.8. Синдром активации макрофагов и гиперферритинемия ...	89
1.5.9. ADAMTS-13 и фактор Виллебранда .....	90
1.5.10. Антифосфолипидные антитела. ....	92
1.5.11. Гипергомоцистеинемия .....	93
1.6. Лабораторный мониторинг COVID-19 и значение определения маркеров коагулопатии .....	94
1.6.1. Диагностика COVID-19 .....	95
1.6.2. Лабораторный мониторинг пациентов с COVID-19 .....	97
1.6.3. Коагулопатия у пациентов с COVID-19 .....	97
1.6.4. Лабораторные биомаркеры COVID-19-ассоциированной коагулопатии. ....	98
1.6.5. Другие параметры оценки тяжести состояния пациентов с COVID-19 .....	107
1.6.6. Стратификация рисков на основании лабораторных параметров. ....	118
1.7. Группы риска тромбоэмболических осложнений среди пациентов с COVID-19 .....	125

1.8. Вакцино-индуцированная тромбоцитопения .....	129
1.8.1. Патогенез вакцино-индуцированной тромбоцитарной тромбоцитопении. ....	131
1.8.2. Современные представления о методах диагностики и лечения вакцино-индуцированной тромбоцитарной тромбоцитопении. ....	140
1.8.3. Современная позиция в отношении соотношения пользы и рисков вакцинации .....	145
<b>Глава 2. Антикоагулянтная терапия при COVID-19.....</b>	<b>150</b>
2.1. Множественные эффекты гепаринов .....	150
2.1.1. Гепарин. Структура и синтез .....	151
2.1.2. Антикоагулянтные свойства гепаринов .....	155
2.1.3. Неантикоагулянтные свойства гепарина .....	157
2.1.4. Противовирусные эффекты гепаринов .....	164
2.1.5. Неблагоприятные эффекты гепаринов .....	165
2.2. Антитромботическая терапия у пациентов с COVID-19.....	168
2.2.1. Антитромботическая терапия для амбулаторных пациентов с COVID-19. ....	168
2.2.2. Антитромботическая терапия у госпитализированных пациентов в некротическом состоянии .....	170
2.2.3. Антитромботическая терапия у госпитализированных больных в критическом состоянии .....	176
2.2.4. Ведение пациентов с острым тромбозом на фоне COVID-19 .....	178
2.2.5. Ведение стационарных пациентов с COVID-19 с гепарининдуцированной тромбоцитопенией с тромбозом или без него .....	178
2.2.6. Антитромботическая терапия больных, выписанных из стационара .....	179
Список литературы .....	180
Предметный указатель .....	181

# Глава 1

## COVID-19, воспаление и нарушения гемостаза

### 1.1. ВВЕДЕНИЕ

В декабре 2019 г. в Ухане, Хубэй, появилась серия необъяснимых случаев пневмонии. Клинические проявления свидетельствовали о вирусной пневмонии. Секвенирование образцов выявило новый коронавирус под названием «второй коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома» (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2 – SARS-CoV-2), и вызванное им заболевание получило название «коронавирусная инфекция 2019 г.» (COronaVIrus Disease 2019 – COVID-19). Коронавирусы представляют собой разновидность одноцепочечных РНК-вирусов (РНК – рибонуклеиновая кислота) с положительной цепью, диаметр которых составляет 80–120 нм. Выделяют вирусы нескольких типов –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ . COVID-19 принадлежит к роду  $\beta$  и имеет капсулу, на поверхности которой находится короноподобный протеиновый шип. Клинические проявления новой коронавирусной инфекции включают лихорадку, кашель, боль в груди, усталость, миалгию, диарею, тошноту и рвоту. Тяжелые случаи могут быстро прогрессировать до острого респираторного дистресс-синдрома, метаболического ацидоза, септического шока, коагулопатии и полиорганной недостаточности. 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила глобальную пандемию COVID-19. SARS-CoV-2 характеризуется длительным инкубационным периодом, высокой инфекционностью и несколькими путями передачи.

В связи с недостатком информации, противоречивыми результатами исследований, многокомпонентностью влияния вируса на организм хозяина, а также различными последствиями, которые запускает вирус в организме, нет раздела медицины, который бы не изучал патогенез вирусной атаки COVID-19. За время пандемии было показано, что именно сосудистые осложнения имели наиболее тяжелое течение при COVID-19 и являлись основной причиной смерти пациентов. Механизмы развития сосуди-

стых осложнений комплексные и затрагивают как систему гемостаза, так и иммунные реакции, «воспалительный шторм», нарушения в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе, эндотелиопатии и др.

## **1.2. МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ИНФЕКЦИИ COVID-19**

Ранее было показано, что вирус способен связываться с ангиотензин-превращающим ферментом человека 2 (АСЕ-2) для дальнейшего проникновения внутрь клетки. АСЕ-2 является важным компонентом ренин-ангиотензиновой системы [1]. Ренин гидролизует ангиотензиноген до ангиотензина I, который затем превращается в ангиотензин II (Ang II) при помощи ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Ang II приводит к вазоконстрикции, повышает артериальное давление и ремоделирует сосуды путем связывания с рецептором Ang II типа I. АСЕ-2 может воздействовать на ангиотензин I, что приводит к синтезу ангиотензина. Синтез ангиотензина может происходить через зависимые или независимые пути АСЕ-2, или АСЕ-2 может напрямую гидролизовать Ang II до ангиотензина. Ангиотензин, связываясь с рецепторами, запускает вазодилатацию, защищает эндотелий сосудов от повреждений. Эти две системы уравнивают друг друга. АСЕ-2 экспрессируется эпителиальными клетками альвеол и является участком инвазии вируса, что в дальнейшем приводит к повреждению легких и развитию легочной недостаточности, вызванной вирусной инфекцией [2]. Наблюдения показали, что уровни Ang II в плазме значительно растут при инфекции COVID-19. По всей видимости, происходит связывание вируса SARS-CoV-2 с рецептором АСЕ-2, что приводит к чрезмерному высвобождению Ang II и вазоконстрикции, увеличивая нагрузку на сердце, приводя в конечном итоге к гипертрофии кардиомиоцитов и повышению артериального давления.

Инвазия вируса в легочную ткань тут же запускает процессы воспаления. Инвазия вируса в кардиомиоциты приводит к отеку, дегенерации и некрозу кардиомиоцитов. Между тем при лизисе клеток высвобождаются провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин (IL) 1–6, фактор эндотелиальной адгезии, фактор некроза опухоли, колония гранулоцитов, стимулирующий фактор, интерферон, моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, воспалительный белок макрофагов 1 $\alpha$  [3]. Накопление цитокинов, а также привлечение клеток воспаления из кровяного русла в место повреждения приводят к развитию «воспалительного шторма», стимулируя чрезмерную активацию иммунного ответа организма, увеличивая повреждение или апоптоз клеток миокарда, снижение стабильности ате-

росклеротических бляшек коронарных артерий. Нарушая целостность атеросклеротической бляшки на стенке сосуда, вирус способствует прогрессированию атеросклероза и присоединению тромбоза. Все это приводит к увеличению риска обострений сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Повреждение легких, вызванное COVID-19, приводит к гипоксии, снижению парциального давления кислорода и насыщения кислородом тканей, к накоплению свободных радикалов кислорода, молочной кислоты и других метаболитов. Циркулируя в крови, эти субстанции неизбежно повреждают миокард. На фоне гипоксии усиливается сердечная деятельность и постепенно развивается сердечная недостаточность. Кроме того, гипоксия является одним из факторов, запускающих воспалительный ответ и усиливающих нарастание «воспалительного шторма» [5].

Окислительный стресс является одной из причин эндотелиопатии и, как следствие, гиперкоагуляции и тромбоза. Первой реакцией на вирусную инвазию является активация иммунного и воспалительного ответа. Воздействие патогенов на ткани и органы представляет собой комплексный процесс. В то же время происходит эмоциональный отклик человека на заболевание, проявляющийся тревогой, стрессом и др., что также увеличивает стресс. На фоне стресса идет высвобождение катехоламинов в больших количествах. Высокие концентрации катехоламинов обладают токсическим действием на миокард, могут приводить к нарушению микроциркуляции, спазму сосудов, развитию аритмии, а также к наступлению внезапной смерти [6, 7].

Для тяжелого течения COVID-19 характерно следующее.

1. Внезапное ухудшение течения заболевания примерно через 1–2 нед после начала заболевания.
2. Очень низкий уровень лимфоцитов, особенно естественных киллеров (NK), в периферической крови [8]. Грубое нарушение работы иммунной системы, которое проявляется атрофией селезенки и лимфатических узлов наряду со снижением количества лимфоцитов в лимфоидных органах; в селезенке выявляются значительная дегенерация клеток, очаговый геморрагический некроз, пролиферация макрофагов и фагоцитоз макрофагов. Аналогичные процессы атрофии в лимфатических узлах. При тяжелой форме COVID-19, несмотря на лимфоцитопению, имеет место активация лимфоцитов. В одном исследовании были проанализированы подгруппы лимфоцитов и цитокины у 123 пациентов, у всех пациентов была лимфоцитопения. Процент снижения CD8+ Т-клеток составил 28,43 и 61,9% в группах легкой и тяжелой степени соответственно, а уменьшение NK-клеток составило 34,31 и 47,62% соответственно. Кроме того, уровни IL-6 в сыворотке в тяжелой группе были значительно выше, чем в легкой группе [9]. Экспрессия HLA-DR в клетках CD4+

и CD8<sup>+</sup> была повышена, концентрация CD4<sup>+</sup>, CCR4<sup>+</sup>, CCR6<sup>+</sup>, Th17 тоже повышалась, а также было выявлено повышение экспрессии цитотоксичных перфорина и гранулизинов в CD8<sup>+</sup> Т-клетках [10].

3. У пациентов с COVID-19 механизм тромбоцитопении, вероятно, многофакторный. Было высказано предположение, что сочетание вирусной инфекции и искусственной вентиляции легких приводит к повреждению эндотелия, запускающему активацию тромбоцитов, агрегацию и тромбоз в легких, при котором происходит значительное потребление тромбоцитов. Более того, поскольку легкое может быть местом высвобождения тромбоцитов из зрелых мегакариоцитов, тяжелая пневмония может привести к нарушенной дефрагментации тромбоцитов. Коронавирусы могут также непосредственно инфицировать элементы костного мозга, что приводит к аномальному гемопоэзу, или вызвать аутоиммунный ответ против клеток крови [9].
4. При коронавирусной пневмонии, сопровождающейся быстрой репликацией вируса, обильная инфильтрация тканей в процессе воспаления и цитокиновый шторм приводят к острому повреждению легких, острому респираторному дистресс-синдрому и к летальному исходу [10, 11]. Цитокиновый шторм отмечается у большинства пациентов с тяжелой формой COVID-19 и проявляется чрезмерным и неконтролируемым выделением провоспалительных цитокинов. Накопленные данные показали, что у части пациентов с тяжелой формой COVID-19 наблюдается повышенный профиль таких цитокинов, как IL-1B, -1RA, -7, -8, -6, -9, -10, фактор роста фибробластов (FGF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, интерферон  $\gamma$ , гранулоцитарно-колониестимулирующий фактор, интерферон- $\gamma$ -индуцируемый белок, моноцитарный хемотаттрактантный белок, макрофагальный воспалительный белок 1 $\alpha$ , фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор некроза опухоли, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [12–17].
5. У большинство тяжелых пациентов с COVID-19 в условиях реанимации отмечают постоянное повышение скорости оседания эритроцитов, С-реактивного белка (СРБ) и высокий уровень IL-6, фактора некроза опухоли, IL-1 $\beta$ , -8, -2R, тромбоцитопения и т.д. на фоне острого респираторного дистресс-синдрома, гиперкоагуляции и диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Еще одним выраженным клиническим признаком у пациентов с тяжелой формой COVID-19 является повреждение эндотелия. У многих пациентов в критическом состоянии наблюдаются васкулитоподобные проявления и даже гангрена конечностей.

При патанатомическом исследовании были показаны полнокровие и отек сосудов альвеолярной перегородки с умеренной инфильтрацией моноцитов и лимфоцитов. Мелкие сосуды с утолщением стенки, стенозом просвета, кровоизлияниями в окружающие ткани. В ряде случаев выявлены гиалиновые тромбы микрососудов [18–20]. Интересно, что у некоторых пациентов были выявлены антифосфолипидные антитела (АФА) в высоком титре, включая антикардиолипиновые антитела и анти-β2-гликопротеиновые антитела, что сочеталось с развитием тяжелого тромбоза.

Основной механизм повреждения сосудов может быть связан с прямым повреждением эндотелиальных клеток вирусом, а также с массивной активацией нейтрофилов в процессе цитокинового шторма и массивным выбросом **нейтрофильных внеклеточных ловушек** (neutrophil extracellular traps — **NET**) и неуправляемым развитием патологических процессов тромбовоспаления.

### 1.3. ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ НЕЙТРОФИЛОВ

70 лет назад впервые была выявлена связь нейтрофилов с тромбовоспалением. Гранулоциты были описаны как основной компонент сгустков крови у пациентов с активной формой системной красной волчанки. В последующие годы в ряде исследований было показано накопление нейтрофилов в участках формирования тромба, однако их вклад в развитие тромботических состояний оставался не изучен. Ситуация изменилась в тот момент, когда выяснилось, что нейтрофилы являются первичным источником тканевого фактора (ТФ), основного активатора внешнего пути свертывания. Позже в лабораторных исследованиях была доказана большая роль нейтрофилов в развитии тромбоза и тромботических осложнений воспалительных процессов [21]. Исследования на мышах показали, что при венозных и артериальных тромбозах происходят привлечение и активация нейтрофилов в участке повреждения сосудистой стенки с самых ранних стадий формирования тромба [22]. Искусственно вызванная в исследованиях нейтропения препятствовала развитию как артериальных, так и венозных тромбозов.

Большое количество исследований за последние годы продемонстрировали тесную связь между процессами воспаления и тромбообразования [23]. В процессе противостояния иммунной системы и системы гемостаза с патогеном происходит формирование тромбов и выброс NET — процессы, объединенные в единое понятие «иммунотромбоз» [24]. У низших беспозвоночных, например у крабов, ядерные иммуногемостатические клетки гемоциты ответственны за борьбу с инфекциями, они же препятствуют потере крови и лимфы [25]. У более высокоорганизованных