

А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.С. Шкода, С.В. Акиньшина, Н.А. Макацария, В.И. Цибизова, Ж.-К. Гри, И. Элалами, Ц. Ай, Э. Грандоне

Введение

Коронавирусной инфекции зачастую сопутствует состояние гиперкоагуляции, предопределяющее летальность [1]. Распространенные микро- и макрососудистые нарушения при COVID-19 можно объяснить различными уже изученными феноменами, в настоящее время проводится изучение новых патогенетических механизмов.

Макро- и микротромбозы у пациентов с COVID-19 развиваются чаще в таких органах, как легкие, селезенка, мозг, желудок и периферические сосуды [2–5], причем тромбозы развиваются как в острую фазу заболевания, так и отсрочено, спустя несколько недель. Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и тромбоз глубоких вен – наиболее частые тромботические осложнения при COVID-19, которые отмечаются у тяжелых больных с частотой 20–30 % [6]. В голландской когорте из 184 пациентов с COVID-19 в отделении интенсивной терапии (ОИТ) совокупная частота тромботических событий крупных сосудов составила 49 %, большинство из которых были представлены ТЭЛА, визуализированной на компьютерной томографии в сегментарных и субсегментарных легочных артериях [5]. Это произошло, несмотря на проводимую стандартную тромбопрофилактику надропарином в дозе 2800 или 5700 МЕ один или два раза в день. Риск смерти от всех причин в этой когорте был в 5 раз выше среди пациентов с тромботическими осложнениями. В итальянской когорте из 388 пациентов наблюдалась меньшая, но тем не менее значительная совокупная частота тромбоэмболических событий – 21 % (27,6 % в ОИТ, 6,6 % в отделении общего профиля), половина из которых была диагностирована в течение 24 ч после поступления в стационар [7]. Во французской когорте наблюдалась аналогичная совокупная частота тромботических событий. Этот показатель был сравнен с частотой тромбозов в 2 разных ретроспективных контрольных группах: (а) реанимационные пациенты без COVID-19, поступившие в ОИТ зимой 2019 г., и (б) пациенты с гриппом, госпитализированные в то же ОИТ в 2019 г. [8]. В ОИТ среди пациентов с COVID-19 у 20,6 % были обнаружены признаки ТЭЛА (в среднем через 6 дней после поступления в ОИТ), что было более чем в 2 раза выше по сравнению с любой из контрольных групп. Таким образом, COVID-19 является протромботическим инфекционным заболеванием среди других тяжелых вирусных респираторных пневмоний.

Распространенный легочный микротромбоз вносит свой вклад в уникальное течение острого COVID-19. В одном из исследований проводилось сравнение аутопсийного материала легких 7 пациентов, умерших от COVID-19, с 7 пациентами, умершими от острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) при гриппе H1N1 [9]. У пациентов с COVID-19 микротромбы в альвеолярных капиллярах встречались в 9 раз чаще, чем у пациентов с гриппом ($p < 0,001$), что соответствует увеличению частоты тромбозов, наблюдаемых клинически при COVID-19, по сравнению с другими вирусными пневмониями. Тяжелое повреждение эндотелия и наличие внутриклеточных вирусных частиц были также отмечены у пациентов с COVID-19 в областях, связанных с микротромбозом, что позволяет предположить, что повреждение эндотелия и воспаление могут непосредственно лежать в основе образования тромба. Острая дисфункция правого желудочка и легочное сердце при COVID-19 обусловлены обилием центральных или сегментарных легочных эмболов или выраженностью микротромбоза мелких сосудов легких. Эта ситуация утяжеляется гипоксической вазоконстрикцией и повышенным внутригрудным давлением из-за механической вентиляции. Все это вызывает внезапное увеличение постнагрузки правого желудочка, что может приводить к разрыву правого желудочка и легочной артерии. В исследовании с участием 120 пациентов с COVID-19

летальность была напрямую связана с продольной деформацией правого желудочка и дилатацией правого желудочка [10]. ТЭЛА и напряжение правого желудочка могут вносить значительный вклад в повышение уровня тропонина, развитие кардиогенного шока и внезапной смерти, развитие которых было отмечено у пациентов с COVID-19 [11, 12].

У многих пациентов с COVID-19 был диагностирован острый ишемический инсульт, в том числе у молодых пациентов в возрасте до 50 лет без значительных ранее выявленных факторов риска [13]. По данным ряда исследований, частота инсульта у пациентов в ОИТ составила примерно 2,5 % [5, 7]. Сообщалось также об мезентериальном тромбозе, обструкции периферических артерий и облитерирующем артериосклерозе крупных сосудов [3, 14–16], а также о тромбозе церебрального венозного синуса [17]. Акроишемия (англ. COVID toes), связанная с тромбозом микрососудов конечностей [18, 19], также описана у пациентов с COVID-19; возможно, что этот феномен представляет собой воспалительное повреждение микрососудов без микротромбоза как такового (рис. 1) [20].

Возможные патогенетические механизмы тромбоза при COVID-19

ДВС-синдром

Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) представляет собой активацию каскада коагуляции с отложением многочисленных тромбоцитарно-фибриновых тромбов в микроциркуляторном русле, что в конечном итоге приводит к потреблению тромбоцитов и факторов свертывания и кровотечениям на фоне гипокоагуляции [21]. Гиперкоагуляция при ДВС-синдроме может усугубляться характеристиками течения основного заболевания, включая гипоксию, обезвоживание и относительную гиподинамию. В тяжелых случаях ДВС-синдром приводит к повреждению микрососудов и последующей дисфункции органов. Маркерами диагностики ДВС-синдрома являются повышенные концентрации продуктов распада фибрина. Гипокоагуляция при ДВС-синдроме является следствием вторичной активации фибринолиза, что не характерно для других тромботических микроангиопатий (ТМА), таких как тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП) или катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС) [22]. Гипокоагуляция при тяжелом течении COVID-19 наблюдается крайне редко.

Однако лабораторный мониторинг свидетельствует об отличиях COVID-19 от ДВС-синдрома [23, 24]. Первоначально ДВС-синдром был предложен в качестве механизма патогенеза в связи с заметным повышением концентрации D-димера и продуктов распада фибрина (ПДФ). При COVID-19 эти биомаркеры значительно коррелируют с заболеваемостью и смертностью [1]. Уровень D-димера продолжает расти на протяжении всего периода госпитализации у выживших пациентов [25]. Это свидетельствует о продолжающемся прокоагулянтном состоянии, коррелирующим с тяжестью течения заболевания. С другой стороны, повышение протромбинового времени (ПВ) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) незначительно, содержание фибриногена и фактора VIII повышено [26], что более типично для острой фазы системного воспалительного ответа, чем для ДВС-синдрома. Тромбоцитопения – еще одна особенность COVID-19, которая линейно связана с риском смерти; но степень тромбоцитопении, наблюдаемая на поздних стадиях COVID-19, ниже, чем та, которая обычно наблюдается при ДВС [27, 28].



Рисунок 1. Тромботический шторм при COVID-19 [рисунок авторов].

Примечание: NETs – внеклеточные ловушки нейтрофилов;
АФС – антифосфолипидный синдром;
CAM – синдром активации макрофагов;
PAC – ренин-ангиотензиновая система.

Figure 1. Thrombotic storm in COVID-19 [drawn by authors].

Note: NETs – neutrophil extracellular traps;
АФС – antiphospholipid syndrome;
CAM – macrophage activation syndrome;
PAC – renin-angiotensin system.

Анализ прокоагулянтного состояния при COVID-19 указывает на то, что гиперактивация гемостаза, достигающая пика в течение первой недели после поступления в ОИТ, не перетекает во вторичный гиперфибринолиз. В одном из исследований по данным тромбоэластометрии гиперкоагуляция при поступлении в ОИТ продолжала расти до 5-х суток, а затем незначительно снижалась к 10-м суткам [29]. Концентрация фибриногена была максимальной при поступлении ($8,96 \pm 1,1$ г/л), снижалась до $3,33 \pm 0,5$ г/л к 10-му дню. Гиперфибриногенемия может быть звеном острой фазы воспалительного ответа [30] или сама по себе играть более сложную роль в состоянии гиперкоагуляции при COVID-19. Одним из основных недостатков этого исследования является то, что измерения на 10-е сутки могли включать только выживших пациентов (33 из 40). Выжили бы оставшиеся 7 пациентов в случае развития у них гиперфибринолиза, неизвестно. Возможно, высокий уровень смертности при COVID-19 на ранних этапах препятствует наблюдению более поздних фибринолитических форм ДВС-синдрома.

Коагулопатия при COVID-19 имеет безусловные отличия от ДВС-синдрома и ТМА, КАФС, гемолитико-уремического синдрома (ГУС), атипического гемолитико-уремического синдрома (аГУС) и ТТП.

Цитокиновый шторм

COVID-19-ассоциированная коагулопатия является результатом воспалительного ответа организма на инфицирование вирусом и активацию иммунных реакций. Активация гемостаза и отложение фибрина является адаптивным механизмом на ранних стадиях инфекционного процесса, однако продолжающееся воспаление может приводить к формированию гиперовоспалительного ответа благодаря цитокиновому шторму и синдрому активации макрофагов (CAM). Цитокиновый шторм представляет собой самоамплифицирующийся процесс высвобождения провоспалительных цитокинов, который является основным фактором развития ОРДС и синдрома полиорганной дисфункции при ряде состояний [31–33]. CAM – каскад провоспалительных реакций, приводящий к высокой частоте тромбозов и летального исхода при сепсисе [34, 35]. Однако точный прогресс от начальной инфекции COVID-19 до воспалительной реакции и состояния гиперкоагуляции неизвестен.

У госпитализированных пациентов с COVID-19 значительно увеличивается концентрация в крови неспецифических воспалительных биомаркеров, таких как С-реактивный белок, скорость оседания эритроцитов, ферритин, а также несколько прокоагулянтных факторов, таких как фактор фон Виллебранда (vWF) и фактор VIII [26]. Кроме того, растет

концентрация таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли альфа (англ. tumor necrosis factor alpha, TNF- α) и интерлейкинов (англ. interleukins, IL) – IL-2R, IL-6, IL-8 и IL-10 [36, 37]. Как TNF- α , так и IL-6 повышаются в большей степени, чем при бактериальном сепсисе или гриппе [38]. Отмечена корреляция между повышенным содержанием IL-6 и повышенным фибриногеном у реанимационных пациентов [39]. Возможный вклад IL-6 в развитие гиперкоагуляции исследуется сейчас при использовании его антагонистов – тоцилизумаба и сарилумаба для снижения риска тромбоза. Также у пациентов с COVID-19 и удлинением АЧТВ выявлен волчаночный антикоагулянт (ВА) у 91 % протестированных пациентов по сравнению с контрольной группой пациентов с удлинением АЧТВ без COVID-19 (26 %) [40]. Клиническая значимость присутствия ВА пока не ясна, однако это повышает вероятность участия антифосфолипидного синдрома (АФС) в патогенезе тромбовоспаления у пациентов с COVID-19.

Таблица 1. Отличия коагулопатии при COVID-19 от ДВС-синдрома, катастрофического антифосфолипидного синдрома (КАФС), тромботических микроангиопатий – гемолитико-уремического синдрома (ГУС) и атипичного гемолитико-уремического синдрома (аГУС) и тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП).

Table 1. Differences between coagulopathy in COVID-19 and DIC, catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS), thrombotic microangiopathies – hemolytic uremic syndrome (HUS) and atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP).

Признак Sign	COVID-19	ДВС-синдром DIC	КАФС CAPS	ГУС HUS	аГУС aHUS	ТТП TTP
Полиорганная недостаточность Multiple organ failure	+	+	+	+	+	+
Микротромбозы Microthrombosis	+	+	+	+	+	+
Кровотечения Bleedings	+	+	+	+	+	+/-
Тромбоцитопения Thrombocytopenia	+	+++	+	++	++	+++
Активация комплемента Complement activation	+	-	+	+	+	+
Шизоциты Schizocytosis	-	+	+/-	+	+	+
Повышение концентрации Д-димера Increased D-dimer concentration	+	+	+	+	+	+
Циркуляция АФА и ВА Circulating APA and LA	+/-	-	+	-	-	+
Концентрация фибриногена Fibrinogen concentration	высокая high	низкая low	норма normal	норма normal	норма normal	норма normal

Примечание: АФА – антифосфолипидные антитела; ВА – волчаночный антикоагулянт.

Патогенетические механизмы иммуноопосредованного тромбоза потенциально могут быть изучены и на примере других тяжелых инфекций. При SARS-CoV в моделях *in vitro* инфицированные мононуклеарные клетки экспрессировали высокий уровень прокоагулянтных агентов, включая фибриноген, ингибиторы сериновой протеазы (англ. serine protease inhibitors, serpins), тканевой фактор (англ. tissue factor, TF) и факторы II и X [41, 42]. Клетки также экспрессировали гены толл-подобного рецептора (англ. toll-like receptor, TLR) 9 и тромбосансинтазы, которые способствуют активации и агрегации тромбоцитов, эндотелиальной дисфункции и вазоконстрикции. Эти процессы могут лежать в основе повреждения эндотелия, наблюдаемого при вскрытии пациентов с COVID-19 и полиорганной дисфункцией. Также механизмы активации тромбоцитов при COVID-19 исследовались при протеомном анализе, который показал снижение плазменного фактора 4 тромбоцитов (англ. platelet factor 4, PF4) и повышение уровня бета-тромбоглобулина [43]. Возможно, что при COVID-19 имеет место сочетанное прокоагулянтное состояние, связанное с прокоагулянтными факторами и дисфункцией тромбоцитов.

При вирусной инфекции и сепсисе несколько параллельно идущих механизмов способствуют прокоагулянтной активности иммунной системы. К ним относятся активация TF, компонентов C3a и C5a системы комплемента и vWF [44, 45]. Вирусы могут активировать внешний путь коагуляции, опосредованный TF и фактором VIIa (FVIIa).

Обычно комплексы TF/FVIIa образуются в месте повреждения эндотелия; однако моноциты и макрофаги могут экспрессировать TF в условиях вирусной инфекции, в основном за счет активности TNF-α и ядерного фактора каппа В (англ. nuclear factor kappa B, NF-κB) [44]. Таким образом, повышенная концентрация TNF-α при COVID-19 может указывать на тромботическую активность, обусловленную тканевым фактором, несмотря на то, что TNF-α является плейотропным провоспалительным цитокином с множественными потенциально протромботическими побочными эффектами. Блокада TNF-α использовалась в качестве терапии сепсиса в ряде исследований, и при метаанализе данных наблюдалось улучшение в отношении смертности во всех исследованиях [46].

Активация комплемента

Активация иммунитета является важной частью противовирусного иммунного ответа, запускаемого интерфероном первого типа. Именно эта активация делает ТМА звеном патогенеза тяжелых форм COVID-19 [47]. В недавних исследованиях было показано, что нуклеокапсидный белок некоторых вирусов, включая SARS-CoV-2, связывается с основной протеазой лектинового пути комплемента [48].

Активация каскада комплемента способствует привлечению и активации лейкоцитов, усилению локального высвобождения провоспалительных цитокинов – IL-1, IL-6, IL-8 и интерферона-γ, а также последующему повреждению эндотелия. Подавление активации системы комплемента способно улучшить ситуацию с гемостазом и эндотелиальной дисфункцией, что было показано на животных моделях сепсиса [45]. В легочной ткани пациентов с тяжелой пневмонией COVID-19 и биоптатах кожи пациентов с COVID-19 и пурпурой присутствуют доказательства катастрофического повреждения эндотелия, сопровождаемого активацией компонентов C5b-9, C4d комплемента, и маннозо-связанная лектин-ассоциированная сериновая протеаза [49]. Для лечения COVID-19 рассматривалась возможность анти-C5-терапии экулизумабом. В одном открытом исследовании у 4 пациентов с COVID-19, получавших экулизумаб, наблюдалось снижение С-реактивного белка, все пациенты успешно вылечились от COVID-19 [50]. В отношении этой терапии необходимы дальнейшие плацебо-контролируемые исследования.

Тромбоцитопатия

Тромбоциты – это короткоживущие небольшие безъядерные клетки, которые, как принято считать, выполняют лишь ограниченные функции, в частности участвуют в процессах гемостаза [51]. Однако в настоящее время доказано, что тромбоциты являются более сложными объектами, обладающими фундаментальными механизмами для различных процессов, включая аутофагию [52], запрограммированную гибель клеток [53], быстрый синтез белка *de novo* [54] и т. д. Тромбоциты взаимодействуют с другими типами клеток, включая клетки циркулирующей крови, эндотелиальные клетки и другие клетки стенки сосуда, либо напрямую, либо посредством высвобождения сигнальных медиаторов. Тромбоциты могут функционировать как субстанции, связывающие иммунную систему (за счет взаимодействий с лейкоцитами) и тромбоз (за счет активации тромбоцитов и высвобождения гемостатических и провоспалительных медиаторов) [55]. Тромбоцитопатия является характерной чертой COVID-19; она включает в себя как тромбоцитопению, так и гиперактивацию тромбоцитов, приводя к развитию гиперкоагуляции и дисфункции иммунного ответа.

Частота тромбоцитопении у пациентов с тяжелой формой COVID-19, требующей искусственной вентиляции легких или госпитализации в реанимационное отделение, достигает 35 % [56]. При этом одновременно отмечается выраженная гиперактивация тромбоцитов [56]. Активированные тромбоциты экспрессируют P-селектин и CD40L на поверхности клетки, взаимодействуют с нейтрофилами и могут высвобождать α-гранулы и компонент C3 комплемента, а также различные цитокины, включая СС-хемокиновый лиганд 2 (CCL2), CCL3, CCL7, IL-1β, IL-7, IL-8 и фактор роста гепатоцитов [57, 58]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что в ответ на вирусную инфекцию

тромбоциты высвобождают IL-1 β на микрочастицах, что способствует увеличению проницаемости эндотелия [59].

Помимо высвобождения цитокинов, еще одним важным при COVID-19 фактором является привлечение нейтрофилов в сосудистую сеть [60]. Феномен связывания активированных тромбоцитов с нейтрофилами и перенос связанных с тромбоцитами нейтрофилов по эндотелию, известный как «вторичный захват», играет решающую роль в запуске иммунотромбоза [61]. Связывание активированных тромбоцитов с нейтрофилами облегчает миграцию тромбоцитов в просвет альвеол и способствует образованию отека легких, что в свою очередь может вызвать дальнейшую активацию тромбоцитов. Доказано, что внеклеточные ловушки нейтрофилов (англ. neutrophil extracellular traps, NETs) способствуют прогрессированию процессов тромбовоспаления у пациентов с COVID-19. Гипоксия, окислительный стресс и другие факторы влияют на работу митохондрий тромбоцитов, приводя к гиперактивации тромбоцитов и апоптозу [62]. Исследования показали, что многие сопутствующие заболевания, наблюдаемые у пациентов с COVID-19 (например, сахарный диабет и ожирение), связанные с окислительным стрессом, могут способствовать гиперактивности тромбоцитов и апоптозу [63]. Тромбоцитопения может развиваться как в результате снижения выработки, так и повышенного потребления тромбоцитов. На данный момент известны 3 основных механизма снижения концентрации тромбоцитов – это старение тромбоцитов (потеря сиаловой кислоты), апоптоз и разрушение тромбоцитов макрофагами. Потребление тромбоцитов в растущем тромбе или апоптоз тромбоцитов могут объяснить тромбоцитопению, наблюдаемую у некоторых пациентов с COVID-19. В качестве альтернативы SARS-CoV-2-индуцированная выработка аутоантител против поверхностных антигенов тромбоцитов может вызывать повышенное разрушение тромбоцитов [64]. Антифосфолипидные антитела (АФА) также были обнаружены у тяжелобольных пациентов с COVID-19 [65]. Гипоксия у пациентов с COVID-19 может прямо или косвенно способствовать развитию тромбоцитопатии. В исследовании J. Maquet с соавт. было показано, что 58 % пациентов с COVID-19 с тромбоцитопенией на момент госпитализации нуждались в кислородной поддержке по сравнению с 41 % пациентов, у которых количество тромбоцитов было в нормальных пределах на момент госпитализации [56]. TMA, опосредованная активацией системы комплемента (компоненты C3a и C5a), также может способствовать развитию тромбоцитопатии при COVID-19 [50]. Все эти процессы способствуют нарушению регуляции функции тромбоцитов и в конечном итоге предрасполагают при COVID-19 к прогрессированию тромбовоспаления.

Вирус может напрямую влиять на тромбоциты, приводя к усилению апоптоза. Исследования показали, что SARS-CoV-2 приводит к изменению транскриптома тромбоцитов [66]. Достаточно ли тромбоциты экспрессируют ангиотензинпревращающий фермент 2 (англ. angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) на своей поверхности для проникновения SARS-CoV-2 в клетку, до конца не ясно; выявлены и другие потенциальные механизмы проникновения SARS-CoV-2 в тромбоциты, независимые от ACE2 [67]. Исследования вирусной инфекции гриппа показывают, что тромбоциты имеют множество рецепторов, необходимых для проникновения вируса, а инфицирование тромбоцитов ведет к апоптозу тромбоцитов [68]. Кроме того, учитывая, что тромбоциты обладают свойствами клеток врожденного иммунитета, проникновение вируса может происходить как часть опосредованного тромбоцитами противовирусного ответа на SARS-CoV-2. Поглощение тромбоцитами и деградация вирусов гриппа и ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), которые представляют собой вирусы с одноцепочечной РНК, как и SARS-CoV-2, происходят через эндосомный путь, опосредованный TLR [55]. Проникновение SARS-CoV-2 в тромбоциты вероятно связано с аналогичным механизмом, приводящим к активации тромбоцитов [55].

Апоптоз тромбоцитов влечет за собой выделение большого количества провоспалительных и прокоагулянтных факторов. Формирование иммунных комплексов представляет собой еще один возможный механизм гиперактивации тромбоцитов и развития тромбоцитопении при COVID-19, механизм этот может быть аналогичен гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ). ГИТ включает в себя образование комплексов гепарин–PF4–антитело, которые распознают рецептор Fc γ R1a на поверхности

тромбоцитов, вызывая активацию и клиренс тромбоцитов [69]. SARS-CoV-2 может образовывать иммунные комплексы с реактивными антителами в организме хозяина, как это наблюдается у тяжелобольных пациентов с инфекцией гриппа H1N1 [70]. Комплексы вирус гриппа-IgG могут связывать рецептор FcγRIIa тромбоцитов и вызывать активацию тромбоцитов [71]. Активация тромбоцитов, индуцированная вирусом, может приводить к увеличению количества конъюгатов тромбоцитов и лейкоцитов [72], потенциально вызывая выброс NETs. Интересно, что отложения тромбоцитов-PF4 в легких были обнаружены при аутопсии пациентов с COVID-19 и коррелируют с повышенным нетозом и образованием микротромбов [60].

В связи с повышенными потерями тромбоцитов принципиальной становится адекватная работа мегакариоцитов. Вскрытия показали аномальное распределение мегакариоцитов и образование протромбоцитов в тканях пациентов с COVID-19. Исследования свидетельствуют о том, при COVID-19 происходит системное увеличение количества мегакариоцитов, при этом легкие являются участком биогенеза тромбоцитов с внутрисосудистыми и внесосудистыми резервуарами мегакариоцитов [73]. Способность этого потенциально компенсаторного увеличения продукции тромбоцитов поддерживать нормальное количество периферических тромбоцитов у пациентов с COVID-19 непостоянна: у некоторых пациентов развивается тромбоцитопения, а у других нет (рис. 2) [27].

Дисфункция эндотелия

Функциями эндотелия является поддержание целостности сосудистой стенки, создание барьера, а также предотвращение прогрессирования воспалительных реакций путем ограничения взаимодействия воспалительного агента с иммунными клетками и тромбоцитами [74]. Эндотелиопатия (или эндотелиальная дисфункция) является важным патологическим признаком COVID-19. При помощи трансмиссионной электронной микроскопии в образцах аутопсии пациентов с COVID-19 были выявлены повреждения эндотелиальных клеток и апоптоз [9, 75]. Повреждение эндотелия играет решающую роль в стимуляции ангиогенеза. При вскрытии пациентов, умерших от COVID-19, установлен активный ангиогенез в легких, который определялся чаще, чем при инфицировании вирусом гриппа. Является ли эндотелиальная дисфункция в первую очередь результатом прямого инфицирования эндотелиальных клеток SARS-CoV-2, еще предстоит определить, но биомаркеры эндотелиальной дисфункции, такие как тромбомодулин, vWF, ангиопоэтин 2 и ингибитор активатора плазминогена-1 (англ. plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), как было показано, повышены у пациентов с COVID-19 по сравнению с группами контроля, и, по-видимому, имеют прогностическое значение, поскольку связаны с тяжелым течением заболевания [76, 77].

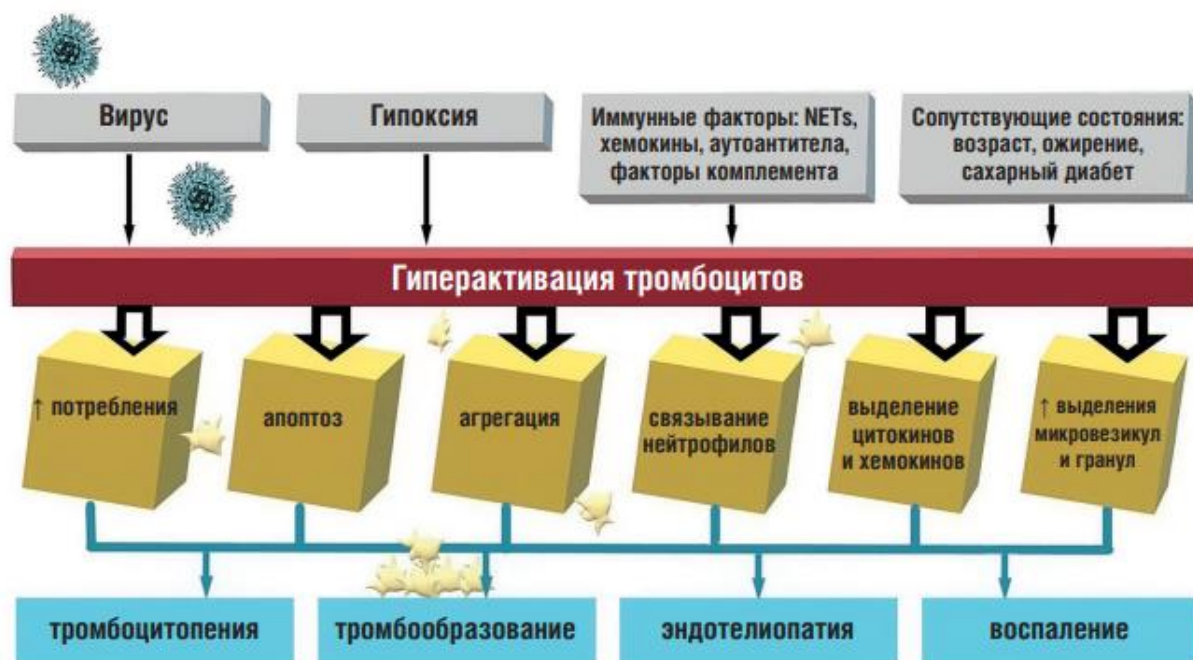


Рисунок 2. Тромбоцитопения при COVID-19 [рисунок авторов].

Примечание: NETs – внеклеточные ловушки нейтрофилов.

Эндотелиальная дисфункция, является основным фактором патофизиологии тромботических осложнений, связанных с COVID-19, включая инфаркт миокарда и инсульты. Она развивается в результате сочетания непосредственного вирусного повреждения с ответом эндотелия на воспаление, активацию иммунных реакций, выработку цитокинов, выработку комплемента [47, 49, 50].

Анализ плазмы крови у 68 пациентов, госпитализированных с COVID-19, выявил повышение концентрации различных циркулирующих маркеров эндотелиального повреждения, таких как vWF, PAI-1, растворимый тромбомодулин, ангиопоэтин 2 и фоллистатин [76, 77]. Особенно высокие уровни vWF, PAI-1 и ангиопоэтина 2 наблюдались у пациентов, которые были госпитализированы в ОИТ, причем повышенные уровни PAI-1, растворимого тромбомодулина, ангиопоэтина 2 и фоллистатина у госпитализированных пациентов с COVID-19 коррелировали с летальностью.

Возраст является основным фактором риска смерти, связанной с COVID-19: 304,9 случая смерти на 1000 случаев констатированы среди пациентов в возрасте ≥ 85 лет по сравнению с 0,3 случаями смерти на 1000 случаев среди пациентов в возрасте 5–17 лет. Возрастные изменения эндотелия могут быть одной из причин тяжелых осложнений COVID-19 [78]. НАДФН-оксидаза и митохондрии генерируют активные формы кислорода (АФК), и нарушение регуляции этих путей с возрастом может приводить к накоплению АФК [79]. В эндотелиальных клетках пожилых людей повышенные уровни АФК снижают доступность оксида азота (NO), который является вазодилатором и антиагрегантом с кардиопротекторным действием [80].

Другая функция сосудистого эндотелия – поддержание баланса между провоспалительными и противовоспалительными факторами. Хроническое воспаление связано с возрастной эндотелиальной дисфункцией, характеризующейся повышенным уровнем С-реактивного белка, провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, которые задействуют иммунные клетки, нарушают функцию митохондрий и нарушают клеточный энергетический метаболизм [79]. Кроме того, с возрастом увеличивается интенсивность апоптоза эндотелиальных клеток [81]. Возрастное снижение биодоступности NO вместе с усилением митохондриального окислительного стресса и хронического воспаления вызывают апоптоз эндотелиальных клеток [81].

Внеклеточные ловушки нейтрофилов

К развитию эндотелиопатии может приводить массивная активация нейтрофилов в процессе цитокинового шторма с выбросом большого количества NETs и неуправляемым течением процессов тромбовоспаления.

Нейтрофилы привлекаются в участок воспаления в несколько этапов: активация, адгезия и экстравазация. Все это происходит при участии селектинов, хемокинов, включая P-селектин, гликопротеин-лиганд-1 P-селектина (англ. P-selectin glycoprotein ligand 1, PSGL-1). P-селектин экспрессируется на поверхности активированных клеток эндотелия и тромбоцитов. В адгезии нейтрофилов участвуют также интегрин $\alpha\text{L}\beta\text{2}$ и молекула межклеточной адгезии 1 (англ. intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) [82].

NETs представляют собой эктопированную внутриклеточную ДНК с фиксированным гранулированным материалом, исторически необходимые для инактивации инфекционных агентов (грибы, вирусы и простейшие), ограничения инфекции, особенно там, где фагоцитоз невозможен. В последнее время роль NETs все чаще признается важной в патогенезе респираторных заболеваний и не только. Внутриклеточный материал выбрасывается в процессе активации нейтрофилов – нетоза. Ранее полагали, что нетоз является терминальным событием для нейтрофилов; однако было показано, что часть нейтрофилов переживает этот процесс, становясь безъядерными, и продолжают оказывать повреждающее действие на ткани. Нетоз – это не один процесс, а множество процессов, приводящих в результате к экспульсии содержимого ядра [83]. В литературе уже описаны суицидальный, витальный и митохондриальный виды нетоза [84].

NETs, вырабатываемые в большом количестве в условиях COVID-19, способствуют развитию альвеолита, повреждению эндотелия и запускают внутрисосудистое свертывание [85, 86]. Избыточная активация нейтрофилов с выработкой NETs способствует острому повреждению ткани легких, микротромбообразованию, кровоизлияниям и легочной недостаточности. Гистоны являются белковыми компонентами NETs и обладают цитотоксическим действием. Сети хроматина в NETs разрушают альвеолярно-капиллярный барьер, приводя к повреждению эпителия, нарушению целостности сосуда и кровоизлиянию [87]. Гиперпродукция или нарушенная утилизация NETs приводит к патологическому микротромбообразованию при сепсисе [88]. Под влиянием эндогенных и экзогенных ДНКаз происходит деградация NETs и массивное высвобождение гистонов из связи с ДНК, проявляющееся тромбозами [89]. В исследованиях K. Martinod и D.D. Wagner было показано, что и артериальные и венозные тромбы содержат нейтрофилы и NETs [90]. NETs всегда присутствуют в тромбах, особенно на стадии организации.

NETs различными путями активируют прокоагулянтное звено, нарушают фибринолиз и работу антикоагулянтов [88]. ДНК NETs запускает коагуляционный каскад по внутреннему пути, так как отрицательно заряженные поверхности усиливают активацию фактора XII – инициатора этого пути [91]. ДНК NETs выступает в качестве кофактора для тромбин-зависимой активации фактора XI [92] и способствует успешному протеканию реакций внешнего пути, связанного с TF [93]. В процессе активации эндотелия и даже его гибели [94], вызванной цитотоксическим действием гистонов, происходит выделение H_2O_2 , далее стимулирующей нетоз [83]. Находящиеся в эндотелии тельца Вейбеля-Паладе подвергаются экзоцитозу совместно с vWF, который, связываясь с тромбоцитами, поддерживает тромбоз. Гистоны активируют тромбоциты через TLR2 и TLR4 [95] и усиливают тромбин-зависимую активацию тромбоцитов [96]. Гистон H4, связываясь с протромбином, способствует его аутоактивации [97]. Гистоны нарушают антитромбин-зависимую инактивацию тромбина [98], препятствуют взаимодействию тромбин–тромбомодулин [99]. Гистоны NETs запускают пути инактивации активированного протеина C (англ. activated protein C, APC) – антикоагулянта, который способен ингибировать нетоз через рецепторы, активируемые протеазами (англ. protease-activated receptors, PARs), на нейтрофилах [100], а именно, и оксидаза и эластаза нейтрофилов способны инактивировать APC. Гистоны способны не только активировать гемостаз, но и повышать

стабильность тромба. Они усиливают структурные изменения в фибрине, делая его устойчивее к фибринолизу. Активируя плазминоген в растворе, гистоны подавляют плазмин, выступая как конкурентные субстраты. Защита фибрина от действия плазминогена усиливается еще и ковалентным связыванием гистонов с фибрином, катализируемое активированной трансглутаминазой, фактором свертывания XIIIa. Путем нековалентных взаимодействий происходит гистон-ассоциированная латеральная агрегация протофибрил фибрина, приводящая к утолщению нитей фибрина, что в результате ведет к затруднению процессов фибринолиза.

Плазмин представляет собой сериновую протеазу с широкой специфичностью, которая связывается с аргинином и лизином, а значит, гистоны являются кандидатами в мишени плазмينا. Конкурируя с фибрином за участки связывания с плазмином, гистоны препятствуют работе плазмينا и фибринолизу, запускаемому тканевым активатором плазминогена (англ. tissue plasminogen activator, tPA). ДНК повышает формирование комплексов tPA с PAI-1 [101], снижает интенсивность синтеза плазмينا из плазминогена под действием tPA на поверхности тромба [98], связывает белки, ответственные за деградацию фибрина, и уменьшает их выделение фибриновыми тромбами [102], а также проникает в нити фибрина и блокирует плазмин-опосредованный лизис тромба. NETs приводят к снижению активности металлопротеиназы ADAMTS-13 (англ. a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13). Как внеклеточная ДНК, так и гистоны NETs способны связываться с vWF, приводя к еще большему привлечению в очаг новых нейтрофилов, усиливая провоспалительный эффект. Плазменный гликопротеин фактора фон Виллебранда обеспечивает доставку тромбоцитов в места повреждения сосудистой стенки и способствует их последующей активации и агрегации [103]. Сверхбольшие мультимеры vWF (UL-vWF), высвобождаемые из эндотелиальных клеток, могут спонтанно активировать циркулирующие тромбоциты и другие клетки крови, способствуя развитию тромбоза [104]. Металлопротеиназа ADAMTS-13 специфически расщепляет мультимер в участках Tyr1605–Met1606 в домене A2, тем самым регулируя размер и активность мультимеров vWF и предотвращая образование тромба (рис. 3) [105].

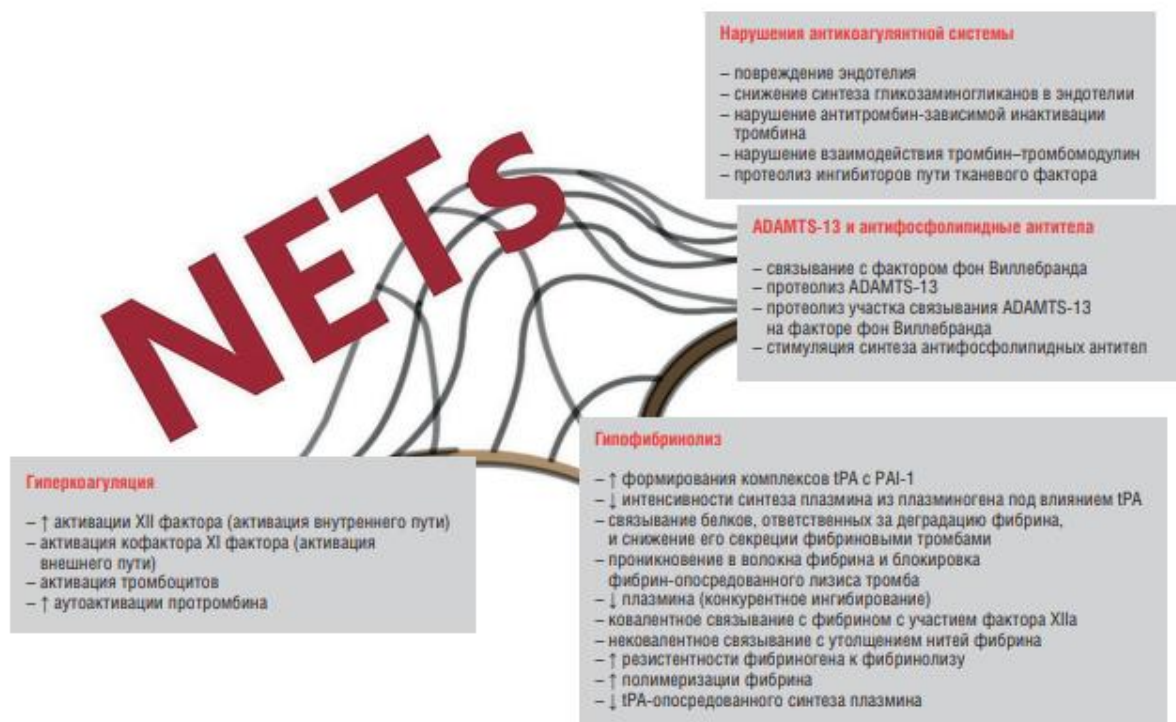


Рисунок 3. NETs и тромботический шторм [рисунок авторов].

Примечание: tPA – тканевой активатор плазминогена; PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1.

Синдром активации макрофагов и гиперферритинемия

SAM может сопутствовать цитокиновому шторму и состоянию гиперкоагуляции, наблюдаемым при COVID-19. SAM развивается в случае, когда активированные антигенпрезентирующие клетки не могут быть лизированы CD8 Т-клетками или естественными киллерами (англ. natural killer cells, NK cells) [35]. После старта воспалительного ответа повышенный уровень IL-6 снижает цитолитическую функцию НК-клеток. Результатом является продолжительное взаимодействие между иммунными клетками, что усиливает цитокиновый шторм, гемофагоцитоз и полиорганную дисфункцию. Два биомаркера COVID-19 могут отражать развитие SAM. Первым является IL-6, концентрация которого повышается до цифр, более высоких, чем при других вирусных заболеваниях. Вторым биомаркером SAM является ферритин, концентрация которого при COVID-19 также растет. В двух сравнительных исследованиях у 653 пациентов с COVID-19 с тяжелым и нетяжелым COVID-19 был выявлен более высокий уровень ферритина в плазме крови на 408 нг/мл (95 % ДИ = 311–505 нг/мл) у пациентов с тяжелым течением; у выживших по сравнению с погибшими пациентами уровень ферритина был на 760 нг/мл выше (95 % ДИ = 561–959 нг/мл) [37]. Таким образом, выявление повышенных концентраций биомаркеров SAM при тяжелой форме COVID-19 свидетельствует о возможном участии SAM в провоспалительном, протромботическом состояниях и синдроме гиперферритинемии [106].

Гиперактивация ренин-ангиотензиновой системы

Инфицирование SARS-CoV-2 происходит путем связывания вируса с ACE2 аналогично SARS-CoV [107]. ACE2 – это мембраносвязанный белок, представленный в различных органах и тканях, включая легкие, тонкий кишечник, сердце, мозг, жировую ткань и эндотелий [108]. Особенно хорошо он представлен в легких, сердце, артериях и венах [109]. Ангиотензиноген превращается в ангиотензин (англ. angiotensin, Ang) I под действием ренина, Ang I превращается в Ang II под действием ACE, и Ang II способствует сужению сосудов, а также провоспалительным и протромботическим эффектам путем воздействия на рецептор ангиотензина II типа I (AT1R) и рецептор ангиотензина II типа IV (AT4R) [110]. ACE2 снижает активность ренин-ангиотензиновой системы (РАС) с помощью двух механизмов. Во-первых, ACE2 приводит к деградации Ang I и Ang II, истощая субстрат, доступный для активации AT1R через классический каскад РАС. Во-вторых, Ang II непосредственно расщепляется до Ang, который представляет собой вазоактивный пептид, обладающий сосудорасширяющим и противовоспалительным действием через рецептор SAM.

SARS-CoV-2 использует ACE2 для проникновения в клетку после взаимодействия с сериновой протеазой TMPRSS2, активирующей вирусный шиповой белок (англ. spike protein) [67]. В результате этого, возможно, подавляется легочная экспрессия мембраносвязанного ACE2. Подавление ACE2 смещает баланс в сторону провоспалительных и протромботических эффектов, опосредованных Ang II и AT1R. Это потенциально может реализовываться увеличением местного или циркулирующего отношения Ang II к Ang или абсолютного уровня Ang II. Y. Liu с соавт. отметили повышенную концентрацию Ang II в плазме крови пациентов с COVID-19 по сравнению с контрольной группой [111].

Ангиотензин II обладает несколькими провоспалительными и протромботическими эффектами, которые могут усиливаться на фоне COVID-19. Тромбоз в системе микроциркуляции был продемонстрирован на моделях мышей, которым вводили Ang II [112]. Ang II участвует в патогенезе эндотелиальной дисфункции и окислительного стресса [113]. Активация AT1R с помощью Ang II усиливает активацию тромбоцитов и нарушает фибринолиз [114]. Ang II также увеличивает экспрессию тканевого фактора, который запускает внешний путь коагуляции, а также PAI-1, который является основным эндогенным ингибитором tPA и урокиназы [115].

У большинства пациентов, госпитализированных в ОИТ с COVID-19, выявлен гипофибринолиз [116]. PAI-1 как основной ингибитор активации плазминогена на фоне

повышенных концентраций при COVID-19 приводит к выраженным нарушениям процессов фибринолиза. Повышение уровня IL-6 также связано с увеличением PAI-1 [117]. Повышенная экспрессия PAI-1 приводит к усилению легочного фиброза, опосредованного трансформирующим фактором роста- β [118]. PAI-1 экспрессируется в различных тканях, включая жировую ткань [119], что указывает на возможную связь между ожирением и смертью при COVID-19, особенно у более молодых пациентов без других сопутствующих заболеваний.

Антифосфолипидные антитела

В ряде исследований у пациентов с COVID-19 выявлена циркуляция АФА [120]. Лабораторное подтверждение АФС путем определения АФА, ВА, антикардиолипидных антител и анти- β 2-гликопротеина 1 зачастую сопутствует как артериальному, так и венозному тромбозу. Описаны клинические случаи трех пациентов с COVID-19 и множественными инфарктами головного мозга на фоне выявленных АФА [65]. Высокая частота определения АФА была отмечена у пациентов с COVID-19 и удлинением АЧТВ [16, 121]. В другом исследовании процент пациентов с положительным результатом на ВА был значительно выше среди пациентов с COVID-19, чем среди пациентов без COVID-19 [122]. АФА, взаимодействуя с эндотелием, тромбоцитами и факторами комплемента, способствуют развитию тромбоза [123–126]. АФА часто выявляют при вирусных инфекциях, их присутствие может носить временный характер и не всегда подразумевает повышенный риск тромбоза [127]. На фоне антикоагулянтной терапии также может быть ложноположительным тест на ВА [128].

Стратегии противотромботической терапии

Текущие рекомендации указывают на необходимость профилактики тромбозов у всех госпитализированных пациентов при отсутствии противопоказаний в связи с риском кровотечения. Учитывая высокий риск кровотечений при фибринолитической терапии, ее применение при тяжелой форме COVID-19 не оправдано.

Заключение

Макро- и микротромбозы часто осложняют течение COVID-19, значительно влияя на смертность. Одновременно несколько тромбогенных механизмов потенциально могут быть вовлечены в тромбоз при COVID-19: цитокиновый шторм, антифосфолипидный синдром, катастрофический его вариант, синдром активации макрофагов, массивный нетоз, активация системы комплемента, нарушение регуляции ренин-ангиотензиновой системы, гипофибринолиз, тромботическая микроангиопатия, синдром диссеминированного микрососудистого свертывания крови и др. Генетическая предрасположенность к тромбозам может стать значительным фактором повышенного риска тромботических осложнений, включая летальные исходы у больных с COVID-19. Особенностью тромбофилии при COVID-19 является плохо контролируемое воспаление и сверхактивация системы свертывания крови, что дало основание рассматривать тяжелые формы COVID-19 как патогенетический механизм тромбовоспаления, цитокинового и тромботического

Литература (<https://www.gynecology.su/jour/article/view/1081/961>)