

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Бурдиенко

Бурдиенко Татьяна Олеговна

**НЕКОТОРЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ COVID-19,
РЕАЛИЗУЕМЫЕ ЛЕЙКОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНЫМИ
КОАГРЕГАТАМИ**

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

доцент Е.В. Фефелова

Чита – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19 И О РОЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНЫХ КОАГРЕГАТОВ В МЕХАНИЗМАХ ИММУНОТРОМБОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1. Механизмы развития COVID-19.....	13
1.2. Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты в норме и их роль в развитии иммунотромбоза при COVID-19.....	36
1.3. Заключение.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
2.1. Общая характеристика клинического материала.....	46
2.2. Методы исследования.....	51
2.2.1. Клинические методы исследования.....	51
2.2.2. Лабораторные методы исследования.....	52
2.2.3. Методы статистической обработки результатов.....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	55
3.1. Количественные характеристики клеток крови и коагрегатов в зависимости от дня заболевания COVID-19.....	55
3.2. Количественные характеристики клеток крови и коагрегатов у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания.....	57
3.3. Количественные показатели факторов, влияющих на образование лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов.....	61
3.4. Показатели иммунотромбоза у больных с COVID-19 в зависимости от степени тяжести.....	66
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	86
ВЫВОДЫ.....	88
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	90
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	93

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

COVID-19 – первая пандемия, с которой человечество столкнулось в текущем столетии [144]. Заразилось в мире 704 753 890 человек, умерло – 7 010 681 (данные на апрель 2024 года) [68]. От 3 до 20% заболевших COVID-19 госпитализировались [142], значительная часть из них (примерно 10 – 30%) нуждалась в интенсивной терапии [195195]. В настоящее время не разработано специфических методов лечения COVID-19 [85], что подчеркивает наше ограниченное понимание патогенеза COVID-19. Причиной летального исхода у пациентов с COVID-19 чаще всего была дыхательная недостаточность (53%) [37, 71, 186], дыхательная недостаточность в сочетании с сердечной недостаточностью (33%) [2], повреждение миокарда и недостаточность кровообращения (7%) [57, 112112].

Иммунотромбоз – это сложный защитный механизм, запускаемый иммунной системой организма в ответ на инфекцию или повреждение тканей, в результате которого образуются микротромбы, которые эффективно изолируют очаг воспаления, предотвращая распространение патогенов (бактерий, вирусов, грибов) по всему организму [96, 196]. Однако баланс между защитной и патологической функцией иммунотромбоза крайне хрупкий [98]. При чрезмерной активации системы, что часто наблюдается при тяжелых инфекциях, образование микротромбов может выйти из-под контроля, приводя к развитию тромбозов в крупных сосудах и, как следствие, к серьезным осложнениям, таким как инфаркт миокарда [188], инсульт [138,190], тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) [86,178] и т.д. Этот процесс тесно связан с взаимодействием клеток иммунной системы (включая нейтрофилы, лимфоциты, моноциты и тромбоциты) и факторов системы гемостаза (коагуляционного каскада).

Первой линией защиты от инфекционных патогенов являются клетки иммунной системы – лейкоциты. В ответ на вирусную атаку включаются и тромбоциты, которые, помимо их общеизвестных функций в сосудисто-тромбоцитарном и коагуляционном звеньях гемостаза, активно модулируют врожденные и адаптивные иммунные реакции, играя значительную роль в иммунном надзоре, развитии воспаления во время инфекции [148]. Важной предпосылкой опосредованных кровяными пластинками изменений иммунных функций является их прямое взаимодействие с различными типами белых кровяных телец. Тромбоциты могут усиливать или уменьшать продукцию цитокинов лейкоцитами, что позволяет организму сбалансировать реакцию воспаления [153]. В свою очередь, белые кровяные клетки также модулируют функциональную активность кровяных пластинок [175].

Агрегаты тромбоцитов и лейкоцитов (ЛТК) представляют собой соединение клеток, связанных специфическими рецепторами. ЛТК определяются как гетеротипичные комбинации по крайней мере одного тромбоцита с одним лейкоцитом [204]. Они возникают в условиях стресса, гиперкоагуляции, иммунных реакций, повреждения сосудов, а также активации лейкоцитов или тромбоцитов [171].

Иммунотромбоз сопровождает некоторые инфекционные, онкологические, аутоиммунные заболевания и аллергии. В контексте COVID-19 иммунотромбоз играет особенно значимую роль. Вирус SARS-CoV-2, помимо своего прямого патогенного действия на клетки дыхательной системы, вызывает мощную провоспалительную реакцию, характеризующуюся «цитокиновым штормом» – массивным высвобождением провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) и фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α) [72]. В настоящее время описана роль цитокиновой сигнализации, гипоксии, повреждения тканей и DAMPs в запуске перехода эндотелиальных клеток из антикоагулянтного в прокоагулянтный фенотип [17]. В условиях воспаления при COVID-19 потеря целостности сосудов, снижение экспрессии

антитромботических молекул, активация тромбоцитов, экспрессия фактора фон Виллебранда на моноцитах, высвобождение микрочастиц и ингибирование фибринолиза приводят к иммунотромбозу [164].

Понимание патогенетических механизмов влияния лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов на развитие COVID-19 даст адекватную оценку прогноза заболевания и своевременности лечения. В настоящее время тщательно изучается роль лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов в патогенезе COVID-19.

Степень разработанности темы исследования

Единого определения цитокинового шторма нет [33]. Существуют разногласия по поводу различия между цитокиновым штормом и физиологической воспалительной реакцией. David Fajgenbaum и Carl June (2020 год) предложили три критерия для его определения: повышенный уровень циркулирующих цитокинов, острые системные воспалительные симптомы и вторичная дисфункция органов, выходящая за рамки той, которую можно было бы отнести к нормальному патогену, если патоген присутствует [108]. При этом не выявлено, на сколько усиливается секреция цитокинов в клетках и как долго она сохраняет при их взаимной активации за счет вступления в коагрегаты.

Последние данные научной литературы свидетельствуют о том, что признаки и симптомы тяжелой новой коронавирусной инфекции 2019 года (COVID-19) напоминают клинический фенотип эндотелиальной дисфункции и имеют общие патофизиологические механизмы [95]. Известно, что инфекция SARS-CoV-2 отрицательно влияет на эндотелий системы микроциркуляции, изменяя целостность сосудистого барьера, вызывая эндотелиальное воспаление и способствуя прокоагулянтному состоянию [70,75]. Однако нет достоверных данных, является ли это влияние исключительным, может ли вирус запускать физиологические реакции,

которые при определённых условиях переходят из разряда «защитных» в «патологические».

Существуют на сегодняшний день исследования, подтверждающие значительный риск тромботических осложнений при COVID-19. Эти осложнения могут включать как микро-, так и макрососудистые тромбозы в венозных и артериальных областях, затрагивая различные органы. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 нередко развивается тромбоэмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен, инсульт и тромбоз при экстракорпоральных вмешательствах [70]. Эти осложнения являются признаками тяжести заболевания и указывают на неблагоприятный прогноз. Однако остается неясным механизм развития данного процесса, что именно является причиной, а что способствует развитию, какие порочные круги формируются, что является мишенью для терапии и что будет прогностическим маркером.

Bonaventura A. и его коллеги (2021) высказали гипотезу, что дисфункция эндотелия и иммунотромбоз играют ключевую роль в патогенезе COVID-19 [96]. В контексте этого заболевания иммунотромбоз может объяснить, как гипервоспалительную реакцию, связанную с COVID-19, так и коагулопатию, которые в сочетании с эндотелиальной дисфункцией соответствуют клинической картине ОРДС, связанного с COVID-19. Остается открытым вопрос: данную гипервоспалительную реакцию запускает и поддерживает сам вирус или в результате вирусной атаки происходит срыв защитных механизмов?

Известно, что тяжесть заболевания COVID-19 коррелировала с уровнем НТК в крови [156]. При этом нет объяснения данного процесса.

Hottz E. (2020) и коллеги показывают, что, вступая в коагрегаты во время COVID-19, моноциты усиливают экспрессию тканевого фактора в когорте пациентов с тяжелой формой, что вносит существенный вклад в процесс гиперкоагуляции [166]. Исследования в данном направлении не затронули лиц с легкой и средней степенью тяжести COVID-19.

Учитывая вышеизложенное, изучение патогенетических механизмов иммунотромбоза при различной степени тяжести COVID-19 представляется своевременным и актуальным.

Цель исследования

Установить патогенетическое значение лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов в развитии иммунотромбоза при COVID-19.

Задачи исследования

1. Определить число различных подтипов лейкоцитов крови, фенотипические и количественные характеристики лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов у пациентов с COVID-19 с учетом степени тяжести и сроков заболевания.
2. Установить концентрацию интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6) и молекул адгезии (P-selectin, PSGL-1, ICAM-1, VCAM-1, sCD40L) в крови у пациентов с COVID-19, а также определить корреляционные взаимосвязи уровня изучаемых белков и количества различных лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов в зависимости от тяжести течения заболевания.
3. Исследовать показатели системы гемостаза и фибринолиза (фибриноген D, фибриноген по Клаусу, тканевой фактор, тканевой активатор плазминогена, ингибитор активатора плазминогена-1, D-димер) у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести течения заболевания.
4. Оценить взаимосвязи лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов с лабораторными показателями иммунотромбоза у пациентов с COVID-19.

Научная новизна исследования

Проведенное исследование вносит вклад в понимание патогенетических механизмов формирования иммунотромбоза, реализуемого лейкоцитарно-тромбоцитарными коагрегатами при COVID-19.

Впервые показано, что независимо от степени тяжести COVID-19, наблюдается изменение числа гетероагрегатов в крови с увеличением количества нейтрофильно-тромбоцитарных коагрегатов, снижением числа лимфоцитарно-тромбоцитарных и моноцитарно-тромбоцитарных коагрегатов.

Установлено, что изменение в крови числа гетероагрегатов взаимосвязано с ростом уровня провоспалительных цитокинов (интерлейкинов 1 β и 6) и дисбалансом молекул адгезии (низким содержанием в сыворотке крови ICAM-1, высоким – P-селектина и его лиганда, секреторной формы CD40L, VCAM-1).

Доказано, что признаки коагулопатии наблюдаются при COVID-19 независимо от степени тяжести течения инфекционного процесса.

Впервые выявлены взаимосвязи между количественными характеристиками лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов, уровнем маркеров воспаления, дисфункции эндотелия и гиперкоагуляции у больных COVID-19, свидетельствующие о новом патогенетическом звене иммунотромбоза, обусловленного сформированными гетероагрегатами.

Теоретическая и практическая значимость работы

Ценность работы заключается в расширении знаний о патогенезе иммунотромбоза, обусловленного образованными в кровеносном русле лейкоцитарно-тромбоцитарными коагрегатами при COVID-19.

Уточнена роль нейтрофильно-тромбоцитарных коагрегатов моноцитарно- и лимфоцитарно-тромбоцитарных гетероагрегатов в развитии воспаления и коагулопатии при COVID-19.

Полученные сведения, касающиеся выявленных взаимосвязей между большим количеством нейтрофильно-тромбоцитарных коагрегатов и меньшим числом моноцитарно- и лимфоцитарно-тромбоцитарных гетероагрегатов, с высоким уровнем интерлейкинов 1 β и 6, молекул адгезии (P-селектина и его лиганда, секреторной формы CD40L, VCAM-1) и низкой

концентрацией ICAM-1, показателями системы гемостаза и фибринолиза, независимо от дня заболевания и степени тяжести заболевания, формируют новые знания о механизмах иммунотромбоза при COVID-19.

Обнаруженные новые звенья патогенеза позволят провести своевременные лечебно-диагностические и профилактические мероприятия при COVID-19.

Результаты работы используются при проведении лекционных и практических занятий на лечебном и педиатрическом факультетах ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы РК 040(30) № АААА-А17-117030310232-5. В исследовании соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2013 – поправки). Протокол исследования одобрен на заседании Локального этического комитета при ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России (протокол № 119 от 20.01.2022 г.).

Дизайн исследования: сравнительное, одномоментное, контролируемое, открытое исследование пациентов с COVID-19 и контрольной группы. В исследование включены 158 пациентов с COVID-19 (U07.1). При первичном распределении пациентов на группы критерием деления по длительности течения заболевания на момент обследования выступил кластерный анализ (метод k-средних). Были выделены следующие кластеры: первый кластер включал пациентов, обследованных с 1 по 7 день болезни (n=50), второй кластер – с 8 по 15 день болезни (n=55) и третий кластер – более 16 дня заболевания (n=53). Далее пациенты с забором крови на 6-10 день заболевания (n=105) были распределены на группы по критерию тяжести течения COVID-19 на группы с легким течением (n=33), среднетяжелым течением (n=37) и

тяжелым течением (n=35). Набор материала проводился в моногоспитале, развернутом на базе ГУЗ «Городская больница № 1 города Читы».

Группа контроля представлена пациентами, не инфицированными SARS-CoV-2 (n=40: 20 мужчин и 20 женщин), аналогичного возраста, национальности и ареала проживания, проходивших обследование и лечение в ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» г. Чита».

Критерии не включения в исследование: лица младше 30 лет и старше 75 лет; инфицированные ВИЧ, вирусами гепатитов В и С; с онкопатологией, с декомпенсированными сердечно-сосудистыми заболеваниями, почечной и печеночной недостаточностью. Кроме того, из исследования исключались пациенты, получающие таргетную терапию.

Общее количество мужчин в группе с COVID-19 – 75 (47%), женщин – 83 (53%). Средний возраст – 51 год [38; 71]. Среди сопутствующей патологии в группе пациентов с COVID-19 были диагностированы: гипертоническая болезнь (93;63%), атеросклероз (69;47%), ИБС (50;33,7%), сахарный диабет II тип (7;5%), коморбидное ожирение (38;26%).

Тактика ведения больных с COVID-19 соответствовала методическим рекомендациям Минздрава России по профилактике, диагностике и лечению COVID-19 в версии, актуальной на период проведения терапии больного в моностационаре [10].

В работе применялись методы исследования: клинический - работа с историями болезни (клинические и лабораторные показатели), лабораторный – уровень фибрина в плазме крови, иммуноферментный анализ (ИФА) – определение концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-6, ICAM-1, VCAM-1, P-sel, PSGL-1, sCD40L, TF, tPA, PAI-1, D-димер в сыворотки крови, статистический.

Положения, выносимые на защиту

1. Течение COVID-19 сопровождается изменением в крови количества нейтрофильно-тромбоцитарных, моноцитарно-тромбоцитарных и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов независимо от тяжести течения инфекционного процесса.

2. Изменение числа гетероагрегатов в крови больных COVID-19 взаимосвязано с ростом провоспалительных цитокинов и дисбалансом молекул адгезии.

3. При COVID-19 лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты являются существенным звеном развития иммунотромбоза.

Степень достоверности и апробация диссертации

Достоверность полученных результатов определяется достаточной выборкой обследуемых, оптимальным количеством проведенных лабораторных исследований, применением адекватных поставленным задачам методов статистического анализа.

Материалы исследований обсуждены и доложены на XXII научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2023); III научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии и лабораторной диагностики» (Чита, 2023); V Дальневосточном международном медицинском конгрессе-конференции «Фундаментальные исследования в медицине и биологии» (Хабаровск, 2023); VI Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2024); III научно-практической конференции «Персонализированная медицина с точки зрения патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики» (Чита, 2024).

Личный вклад автора в написание диссертации

Автором самостоятельно выполнен обзор отечественной и зарубежной литературы, соответствующей направлению исследования, сформулирована концепция исследования, поставлены цель и задачи, исследования. Автором самостоятельно выполнены пробоподготовка для лабораторного исследования, статистическая обработка результатов исследования,

систематизация данных, анализ, обобщение полученных результатов. На основании полученных данных сформулированы научные положения работы и выводы.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в учебный процесс при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедрах патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Публикации

Основные результаты диссертации опубликованы в виде 12 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, одна из которых из перечня изданий, индексируемых в международных базах цитирования Scopus.

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 121 странице машинописного текста. Состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, перспектив дальнейшей разработки темы исследования, списка сокращений и списка литературы, включающего 231 работу, в том числе 37 отечественных и 194 зарубежных. Текст работы иллюстрирован 13 рисунками и 14 таблицами.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ COVID-19 И О РОЛИ ЛЕЙКОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНЫХ КОАГРЕГАТОВ В МЕХАНИЗМАХ ИММУНОТРОМБОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Механизмы развития COVID-19

Для COVID-19 характерно системное («цитокиновый шторм») и местное воспаление. Цитокиновый шторм и связанные с ним клеточные механизмы являются результатом сложной цепочки событий, изображенной на рисунке 1.

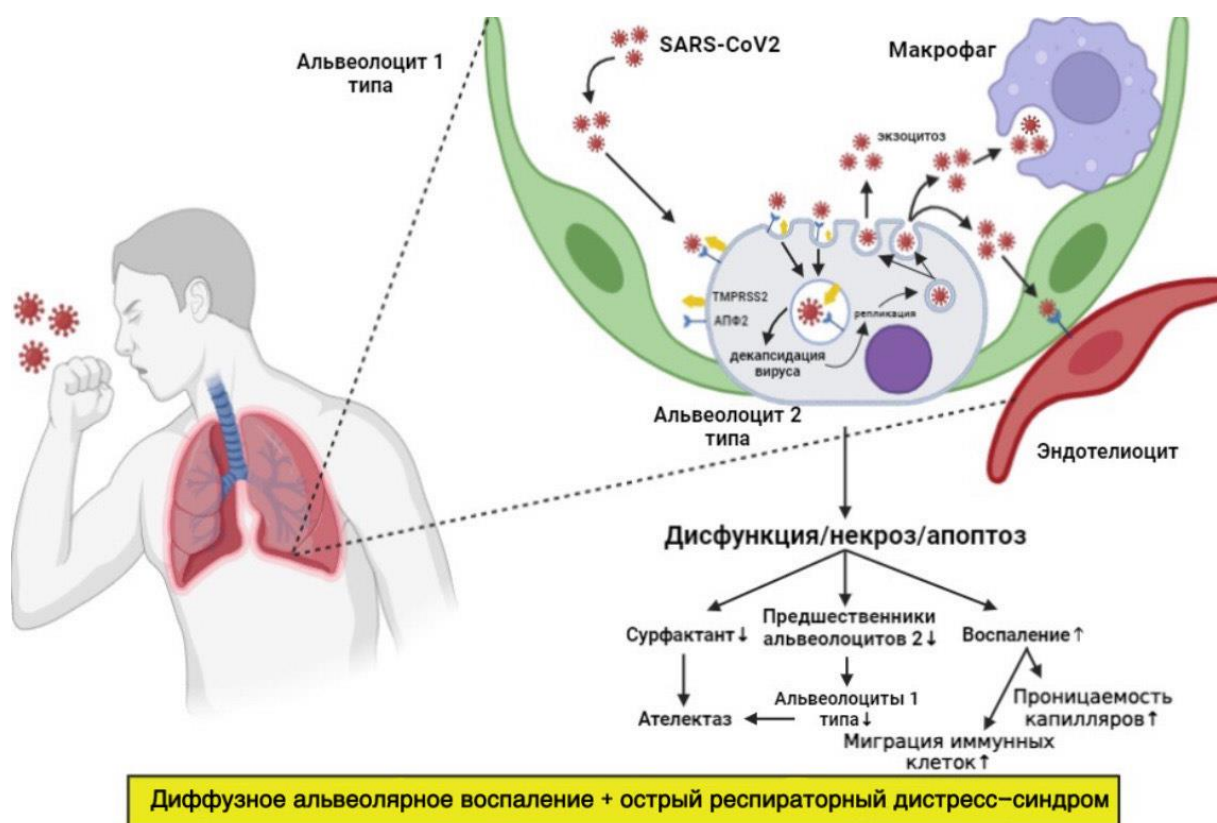


Рисунок 1 – Механизм инфицирования лёгочной паренхимы вирусом [69].

Первым этапом является эндоцитоз вируса SARS-CoV-2, который проникает в клетки хозяина, связываясь своим остроконечным гликопротеином с ангиотензинпревращающим ферментом II (АПФ II) [219, 228].

Белок SARS-CoV-2 spike связывается с ангиотензинпревращающим ферментом 2 в любой клетке, которая его экспрессирует, включая тромбоциты. Другие рецепторы тромбоцитов также могут взаимодействовать с вирионами SARS-CoV-2 (рис. 2).

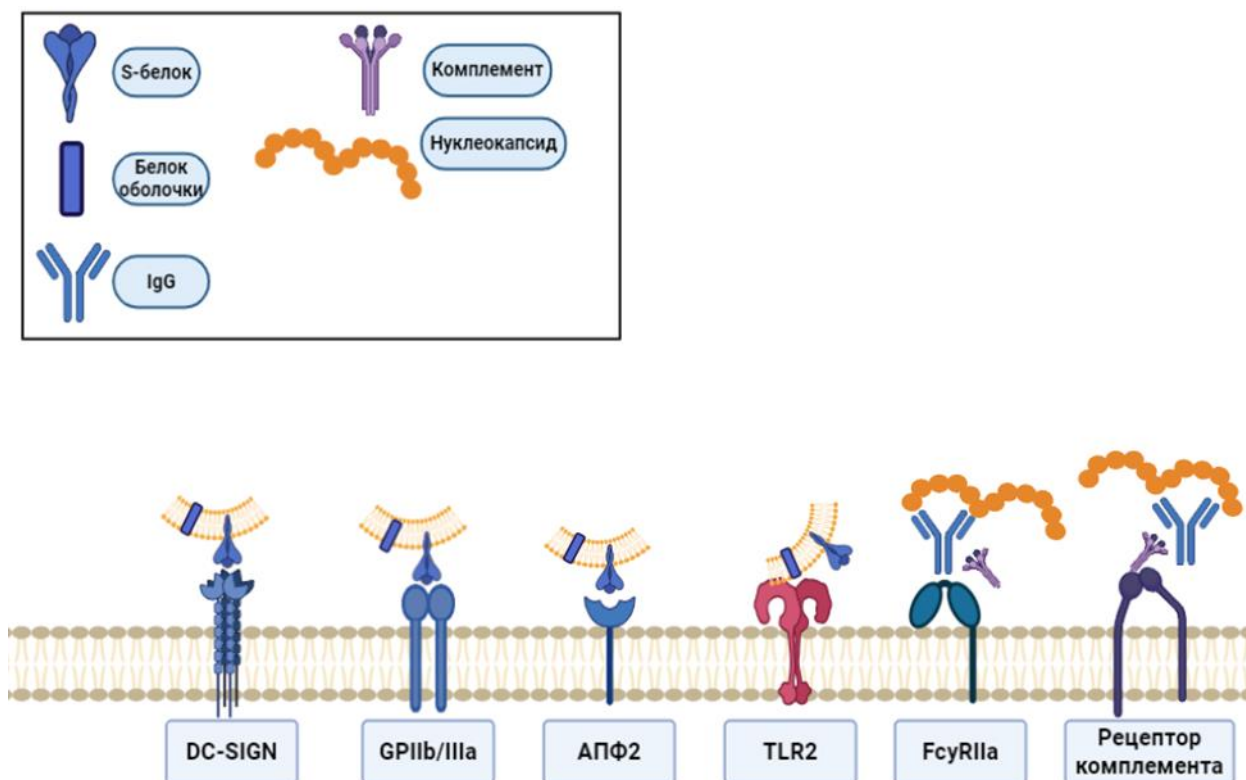


Рисунок 2 – Рецепторы с которыми может взаимодействовать SARS-CoV-2 [136].

Белок Spike содержит аминокислотную последовательность RGD, которая позволяет ему связываться с GPIIb / IIIa, а также с DC-SIGN. Белок оболочки может связываться с Toll-подобным рецептором-2. Антитела против SARS-CoV-2 могут связываться с FcγRIIa. Антинуклеопротеиновые антитела также могут собирать комплемент, который, в свою очередь, связывается с рецептором комплемента на тромбоцитах. Комбинация активации всех этих рецепторов приводит к активации тромбоцитов, секреции и в конечном итоге к образованию тромба [136].

Процесс инфицирования клеток также зависит от присутствия мембранного белка, называемого трансмембранной протеазой серин-2 (TMPRSS-2), который расщепляет вирусный шип, облегчая проникновение

вируса в клетку. Существуют и другие пути проникновения вируса, включающие катепсин L и катепсин S, которые отвечают за эндосомальный путь — процесс, при котором вирус проникает в клетку независимо от TMPRSS-2, через расщепление в эндосомах [123,228]. Эти механизмы позволяют вирусу эффективно инфицировать эндотелиальные клетки и другие типы клеток, способствуя распространению инфекции и развитию патологических процессов, связанных с COVID-19.

Рецепторы АПФ II экспрессируются на поверхности клеток сердца, почек и эндотелиальных клеток [134], а также в 83% альвеолярных эпителиальных клеток, что делает легкие излюбленной мишенью инфекции SARS-CoV-2 [159].

Ангиотензинпревращающий фермент и изоформа ангиотензинпревращающего фермента II (ИАПФ II) играют ключевую роль в физиологии сосудов, являясь компонентами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Данная система представляет собой сложный каскад вазоактивных пептидов, контролирующий сосудистый тонус (кровенное давление), тканевую перфузию, сердечную деятельность и баланс жидкости [191]. ИАПФ II преобразует ангиотензин I в ангиотензин 1-9, который затем под действием АПФ превращается в ангиотензин 1-7, обладающий сосудорасширяющим эффектом. С другой стороны, АПФ преобразует ангиотензин I в ангиотензин II, который является мощным сосудосуживающим агентом. Ангиотензин II также оказывает провоспалительное, протромботическое и метаболические эффекты на сосудистую сеть [135]. Кроме того, ИАПФ II действует как ингибитор ангиотензина II, превращая его в ангиотензин 1-7, тем самым уменьшая сосудосуживающее и провоспалительное действие ангиотензина II. Ось АПФ/Ангиотензин I-II вызывает сужение сосудов, ось АПФ/Ангиотензин 1-7 уравнивает такие эффекты, способствуя расширению сосудов и снижая артериальную гипертензию, а также ослабляя провоспалительные и сердечно-сосудистые осложнения, связанные с ангиотензином II [192]. Таким образом,

баланс между АПФ и ИАПФ II критически важен для поддержания сосудистого гомеостаза и предотвращения эндотелиальной дисфункции [231].

Инфекция SARS-CoV-2 вызывает нарушение функции АПФ II, что приводит к смещению баланса РААС в сторону прессорного отдела. Это смещение вызывает сужение сосудов, усиление воспаления и развитие прокоагулянтного состояния, известного как иммунотромбоз. В результате этих процессов у пациентов с COVID-19 наблюдается повышенный риск тромбообразования, воспалительных реакций и ухудшения кровообращения [20], что значительно усугубляет дыхательную недостаточность и другие осложнения заболевания (рис. 3).

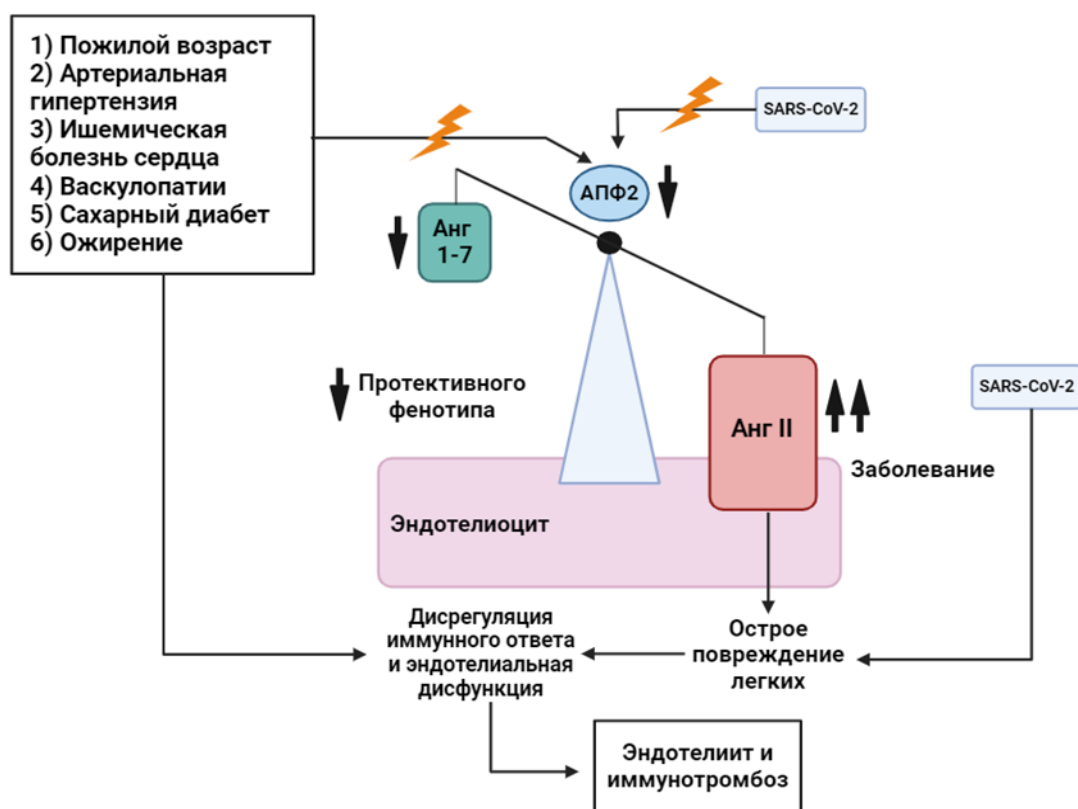


Рисунок 3 – Смещение баланса РААС в сторону прессорного отдела [213].

Инфицирование SARS-CoV-2 индуцирует иммунный клеточный ответ с выработкой провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10 и ФНО α [137]. Среди различных цитокинов ИЛ-6 считается основным действующим лицом в цитокиновой буре при COVID-19 [78, 181]. Это полипептид, состоящий из четырех α -спиралей. Он продуцируется рядом

клеток, включая В-лимфоциты, Т-лимфоциты, макрофаги, моноциты, фибробласты и эндотелиальные клетки. При инфекционном воспалении основными клетками, продуцирующими ИЛ-6, являются моноциты и макрофаги [137]. С помощью различных механизмов ИЛ-6 взаимодействует со своим рецептором ИЛ-6R, который может быть обнаружен на уровне клеточной мембраны или в растворимой форме. Биологическая активность ИЛ-6 многофакторная, она затрагивает различные типы клеток и связана с рядом острых и хронических заболеваний [120]. ИЛ-6 индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов, способствуя выработке IgA, IgM и IgG. На уровне Т-лимфоцитов ИЛ-6 является провоспалительным регулятором, способствующим развитию даже «самовоспалительных» заболеваний. На уровне печени ИЛ-6 является мощным триггером синтеза белков острой фазы (в том числе фибриногена). Хронические сердечно-сосудистые и церебральные заболевания сопровождаются системным воспалительным состоянием, опосредованным ИЛ-6 [143]. Однако наиболее важные эффекты ИЛ-6 могут наблюдаться на уровне легких, при этом повышенная альвеолокапиллярная проницаемость является маркером легочного инсульта [81]. Более высокие уровни ИЛ-6 были предложены в качестве признака, предсказывающего выживаемость при COVID-19 и тяжесть заболевания [43, 60]. Однако средний уровень ИЛ-6 при тяжелом течении COVID-19 значительно ниже, чем уровень в плазме крови, обычно регистрируемый у пациентов с ОРДС [200].

Интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) — это мощный провоспалительный цитокин, который играет ключевую роль в защитных реакциях организма на инфекцию и повреждение [224]. Он также является наиболее изученным из 11 членов семейства ИЛ-1. Он вырабатывается и секретируется различными типами клеток, при этом подавляющее большинство исследований было посвящено его выработке в клетках врождённого иммунитета, таких как моноциты и макрофаги. Он вырабатывается в виде неактивного предшественника массой 31 кДа, называемого про-ИЛ-1 β , в ответ на молекулярные мотивы,

переносимые патогенами, называемые «молекулярными паттернами, ассоциированными с патогенами» (PAMPs). PAMPs воздействуют на макрофаги через рецепторы распознавания образов (PRR) и регулируют пути, контролирующие экспрессию генов [147]. Индукция экспрессии про-ИЛ-1 β обычно называется этапом праймирования и является неэффективным стимулом для секреции. Теперь активированная клетка должна столкнуться с другим PAMP или DAMP (молекулярным паттерном, ассоциированным с опасностью, эндогенными молекулами, высвобождаемыми из мёртвых клеток), чтобы запустить обработку и секрецию активной молекулы ИЛ-1 β [111]. Передача сигналов ИЛ-1 активирует клетки врождённого иммунитета, в том числе антигенпрезентирующие клетки, и способствует поляризации CD4⁺ Т-клеток в сторону Т-хелперов 1-го типа (Th1) и Th17. Таким образом, ИЛ-1 β играет в основном положительную роль в разрешении острых воспалений и в запуске адаптивных противоопухолевых реакций.

При инфекции SARS-CoV-2 нарушается сосудистый барьер, приводящий к интерстициальному отеку, воспалению эндотелия с нарушением регуляции инфильтрации воспалительных клеток и активации путей свертывания крови (нарушение иммунотромботической регуляции) [30].

В нормальных условиях эндотелий находится в состоянии покоя и проявляет антикоагулянтные, антиадгезивные и сосудорасширяющие свойства [207]. Термин «покой» не описывает пассивное состояние, скорее он относится к потенциальному состоянию. Активация – это переход от спокойного «защитного» фенотипа к фенотипу, включающему механизмы, связанные с защитной реакцией организма. В отличие от нейтрального фенотипа, активированный фенотип эндотелиальных клеток обладает сочетанием проадгезивных, прокоагулянтных и сосудосуживающих свойств. Триггеры активации эндотелия включают провоспалительные цитокины, такие как ФНО α , ИЛ-1, бактериальный липополисахарид, вирусы, сдвиговый и окислительный стресс, гипергликемию и гипоксию/реперфузию [199].

Активация эндотелия заключается в усиленной экспрессии специфических молекул адгезии лейкоцитов, таких как Р- и Е-селектины, ICAM-1 и VCAM-1, которые способствуют адгезии лейкоцитов и миграции их в ткани [154].

ICAM-1 – молекула межклеточной адгезии, которая экспрессируется на мембране эндотелиальных и эпителиальных клеток, фибробластах, на некоторых гемопоэтических клетках – региональных макрофагах и является лигандом для LFA-1, Mac-1 и CD43 [125].

VCAM-1 – один из членов суперсемейства иммуноглобулинов, который вовлекается в лейкоцитарно-эндотелиальное взаимодействие. Экспрессируется только после стимуляции клеток ИЛ-1, ФНО α или эндотоксином. VCAM-1 является лигандом интегрина VLA-4, найденного на лимфоцитах, моноцитах и эозинофилах [160]. Также участвует в процессах ангиогенеза и лейкоцитарной адгезии вне сосудистого русла [107].

В процессе трансмиграции лейкоцитов ICAM-1 и VCAM-1 обеспечивают прочное взаимодействие этих клеток с эндотелием. Кроме того, ICAM-1 участвует в формировании иммунологического синапса: связываясь с интегрином $\alpha\text{L}\beta\text{2}$, он способствует формированию контакта между антигенпрезентирующей клеткой и Т-лимфоцитом. Предварительная инкубация лимфоцитов с моноклональными антителами против ICAM-1 практически полностью устраняет способность этих клеток вступать в контакт с тромбоцитами [19].

sCD40L относится к семейству факторов некроза опухоли и экспрессируется в различных типах клеток, включая В-клетки, эпителиальные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки и тромбоциты. Данный медиатор связывает воспаление, гемостаз и дисфункцию сосудов. До недавнего времени считалось, что CD40 и $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ – единственные рецепторы на тромбоцитах, отвечающие за связывание sCD40L, что приводит к активации тромбоцитов и запуску тромбоцитарных процессов. Недавние исследования показали, что интегрин $\alpha\text{5}\beta\text{1}$ является новым рецептором

sCD40L тромбоцитов с неизвестной функцией и оказывает провоспалительное и прокоагулянтное действие [52].

Активация эндотелиальных клеток, вызванная цитокинами, сопровождается потерей целостности сосудов, что приводит к потере жидкости и белков плазмы. Эти изменения особенно заметны в посткапиллярных венулах системы микроциркуляции [221]. Медиаторы воспаления взаимодействуют с эндотелиоцитами, вызывая потерю физиологического фенотипа тромборезистентности. Протромботические эффекты активации этих клеток включают потерю поверхностных молекул антикоагулянта тромбомодулина и гепарансульфата (выпадение гликокаликса); снижение фибринолитического потенциала из-за усиленного высвобождения PAI-1 и ослабление антиагрегантного действия NO и простациклина на тромбоциты. Кроме того, ФНО и ИЛ-1 усиливают выработку ФАТ и индуцируют синтез ТФ, основного инициатора свертывания крови [117].

Различные эффекты активации эндотелиальных клеток имеют общий внутриклеточный механизм контроля посредством активации фактора транскрипции NF-κB. Система NF-κB признана общим знаменателем активации эндотелия [158]. После активации NF-κB усиливается экспрессия генов, которые отвечают за активацию эндотелия через белки поверхностной адгезии, цитокины, факторы роста и компоненты системы свертывания крови [141]. Состояние покоя эндотелия опосредуется NO, который воздействует на систему NF-κB, подавляет ее провоспалительные сигнальные пути. Сниженная биодоступность или несбалансированный метаболизм эндотелиальных расслабляющих факторов, в частности NO, возникает при наличии факторов риска или во время заболевания, поражающего эндотелий сосудов [97]. Нарушение выработки или активности оксида азота рассматривается как один из основных механизмов развития эндотелиальной дисфункции [101]. Оксид азота играет ключевую роль в поддержании сосудистого тонуса и регуляции кровотока, а также обладает

антикоагулянтными и противовоспалительными свойствами. При нарушении выработки NO или его активности происходит дисбаланс между вазодилататорами и вазоконстрикторами, что приводит к сужению сосудов, повышенной агрегации тромбоцитов и воспалению. Этот механизм особенно актуален для пациентов с COVID-19, у которых часто наблюдаются значительные сосудистые нарушения, усугубляющие дыхательную недостаточность и увеличивающие риск тромбообразования [26]. Условия гипоксии, воспаления или ишемии-реперфузии, а также наличие сердечно-сосудистых факторов риска повышают экспрессию и/или активность никотинамидадениндинуклеотидфосфатгидрогеназы (НАДФ) в сосудистой стенке, тем самым усиливая выработку активных форм кислорода. Кроме того, в этих условиях эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) может переключиться на генерацию реактивных кислородных видов (ROS), что известно, как расщепление или разъединение eNOS. Это явление наблюдается не только у пациентов с COVID-19, но и у лиц с различными сопутствующими заболеваниями и состояниями, которые приводят к нарушению функции эндотелия. К таким состояниям относятся гиперхолестеринемия, сахарный диабет, эссенциальная гипертензия, а также хроническое курение [97]. Указанные состояния усиливают дисфункцию эндотелия, способствуя разъединению eNOS, что, в свою очередь, увеличивает выработку ROS и усугубляет воспалительные и тромботические процессы в сосудистой системе, что особенно критично для пациентов с COVID-19.

Переход от активации эндотелия к эндотелиальной дисфункции происходит незаметно и подразумевает фундаментальную особенность: чрезмерную, нерегулируемую и устойчивую реакцию эндотелия на патологический сигнал, что в конечном итоге фатально для организма [93].

О дисфункции эндотелия свидетельствуют следующие сдвиги:

1. Дисбаланс факторов, отражающих нарушение вазомоторной функции эндотелия (продукты метаболизма оксида азота, асимметричный

диметиларгинин, эндотелин-1, метаболиты арахидоновой кислоты), и последующее развитие артериальной гипертензии [23];

2. Увеличение уровня маркеров, нарушения тромбозистентности эндотелия (фактор Виллебранда, тромбомодулин) [100];

3. Высокая секреция факторов, регулирующих ангиогенез (сосудистый эндотелиальный фактор роста, вазогибин-1) [226];

4. Нарушение адгезивной и барьерной функции эндотелия (молекулы адгезии ICAM-1 и VCAM-1) [125];

5. Повышение маркеров повреждения эндотелия (С-реактивный белок; гомоцистеин; 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин (8-OHdG) - модифицированный нуклеозид, являющийся продуктом окислительного повреждения ДНК, вызванного действием активных форм кислорода; эндотелин-1; ангиотензин II, фактор фон Виллебранда) [23].

Важно отметить, что эндотелиальная дисфункция была предложена в качестве основного патофизиологического процесса при нескольких вирусных инфекциях, включая коронавирусы [202].

Характерное для COVID-19 гипертрофическое и прокоагулянтное состояние указывает на критическую роль сосудистого эндотелия по двум основным причинам. Во-первых, эндотелий является органом-мишенью для SARS-CoV-2, а проникновение вируса и его пролиферация в эндотелиальных клетках непосредственно вызывают их повреждение и апоптоз [95]. Во-вторых, эндотелий играет ключевую роль в воспалительном процессе и тромбообразовании. SARS-CoV-2 может вызывать эндотелиальную дисфункцию как напрямую, через инфекцию эндотелиальных клеток, так и косвенно, через устойчивую и чрезмерную активацию ангиогенеза, вторичную по отношению к вирусной инфекции [123]. В результате поврежденный эндотелий способствует развитию тромбозов и усиливает воспалительный ответ [9], что усугубляет состояние пациентов с COVID-19 и приводит к тяжелым осложнениям.

Механизмы, лежащие в основе активации и дисфункции эндотелия при COVID-19, изображены на рисунке 4.



Рисунок 4 – Механизмы эндотелиальной дисфункции и ее последствия у пациентов с COVID 19 [95].

Описанные выше механизмы могут быть обобщены и дополнены следующим образом:

1. Вирус SARS-CoV-2 непосредственно инфицирует эндотелиальные клетки, что приводит к их дисфункции, лизису и гибели [95]. Эти изменения значительно влияют на состояние сосудистой системы и усугубляют течение заболевания. Патологоанатомические исследования, проведенные при аутопсии, подтверждают наличие вируса в эндотелиальных клетках легких и демонстрируют разрушение их мембран [186]. Такие повреждения нарушают целостность сосудистого барьера, приводят к утечке жидкости и белков в

окружающие ткани, что в конечном итоге способствует развитию отека и воспаления в легких.

2. Выраженное снижение экспрессии АПФ II на поверхности эндотелиальных клеток вызывает дисбаланс в системе РААС, это приводит к повышению уровня ангиотензина II в плазме крови, что в свою очередь подавляет выработку NO и вызывает тромбогенность за счет адгезии лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелию [73]. Ангиотензин II также действует как провоспалительная молекула посредством активации ADAM17 [79]. ADAM17 является первой выделяющейся протеазой, которая была идентифицирована, и считается, что она играет важную роль в высвобождении разнообразных цитокинов, закрепленных на мембранах, молекул клеточной адгезии, рецепторов и ферментов. ADAM17 отщепляет ИЛ-6 и ФНО α от мембраны эндотелиальных клеток, высвобождая их в растворимой активной форме [79]. Кроме того, ангиотензин II способствует тромбозу посредством тромбинзависимого пути [80]. Вызванное инфекцией снижение уровня АПФ II косвенно активирует калликреин-брадикининовую систему, что приводит к адгезии лейкоцитов и активации комплемента [51]. Наконец, избыток ангиотензина II увеличивает экспрессию PAI-1 в эндотелиальных клетках, который ингибирует tPA и uPA. Повышенное соотношение PAI-1 к tPA/uPA наблюдается при COVID-19, что приводит к гипофибринолизу [124,198].

3. Окислительный стресс играет ключевую роль в развитии эндотелиальной дисфункции, так как он способствует снижению биодоступности оксида азота. У пациентов с COVID-19 уровень NO в сыворотке крови значительно снижен, что является индикатором окислительного стресса [114]. Этот процесс активирует сигнальные пути, связанные с реактивными формами кислорода, что в свою очередь способствует активации фактора транскрипции NF- κ B. Активация NF- κ B приводит к усиленной экспрессии молекул адгезии, высвобождению провоспалительных цитокинов эндотелиальными клетками, а также повышению сосудистой проницаемости. Это вызывает утечку жидкости из

сосудов и образование интерстициального отека [54, 62]. Таким образом, окислительный стресс и последующие воспалительные процессы значительно ухудшают состояние эндотелия и способствуют развитию дыхательной недостаточности у пациентов с COVID-19.

4. Провоспалительные цитокины первой линии ИЛ-6R и ФНО α вместе с самим вирусом вызывают активацию эндотелиальных клеток и макрофагов, что влечет за собой массивную выработку цитокинов, запускающих острую и устойчивую воспалительную реакцию, известную как «цитокиновый шторм» [206]. Эта цитокин-индуцированная активация эндотелиальных клеток (активация II типа) может привести к потере нормальных противовоспалительных и антитромботических функций эндотелиальных клеток, имеющих своим следствием нарушение регуляции свертывания, активации комплемента и тромбоцитов, пополнению лейкоцитов и воспалению в микроциркуляторном русле. При COVID-19 сывороточные уровни ряда цитокинов выше нормы, включая среди прочего ИЛ-1 β , растворимый ИЛ-2R и ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО, гамма-интерферон, макрофагальный воспалительный белок 1 α и 1- β и VEGF [43, 61, 211].

5. Подтверждена роль активации комплемента в патогенезе COVID-19. Избыточная активация комплемента может вызывать дисфункцию эндотелия и образование микротромбов [205].

6. С-реактивный белок играет важную роль в воспалении сосудов. Он может способствовать повреждению эндотелиальных клеток и апоптозу [77] и может подавлять транскрипцию eNOS, тем самым способствуя дисфункции эндотелиоцитов. Было показано, что CRP активирует молекулы адгезии и транскрипцию генов воспаления [201]. При COVID-19 повышение уровня СРБ связано с неблагоприятным прогнозом [182].

7. Локальная гипоксия легких, вероятно, активирует индуцируемый гипоксией фактор (HIF)-1 α , который вызывает эндотелиальную дисфункцию и тромбоз [131].

8. Массированная выработка цитокинов и образование АФК, связанных с COVID-19, приводят к деградации гликокаликса [132].

У пациентов с тяжелым течением COVID-19 имеется преморбидный фон, который также вносит вклад в развитие данного патологического процесса (рис. 5).

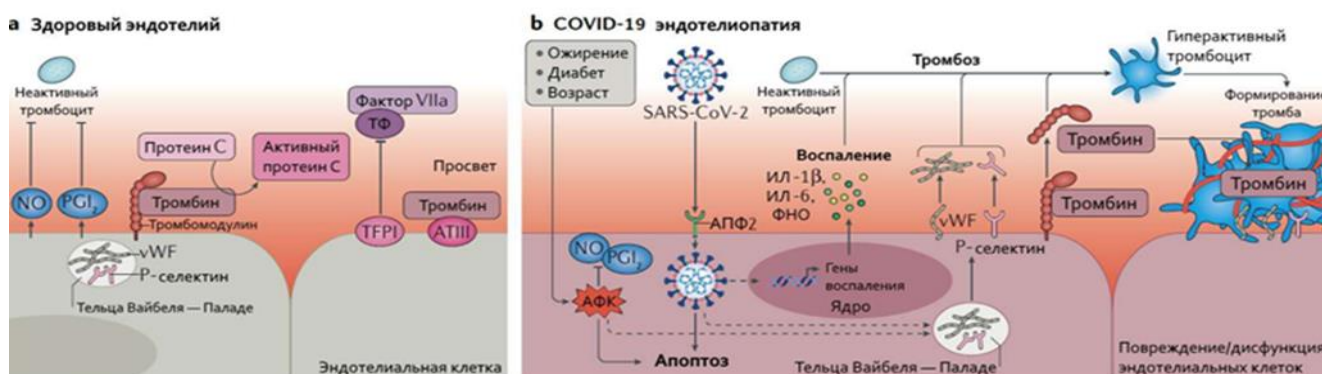


Рисунок 5 – Дисфункция эндотелия при COVID-19 с различным преморбидным фоном [222].

Все упомянутые состояния, действительно, характеризуются общей чертой: многолетней дисфункцией эндотелия, которая может повышать восприимчивость клеток к инфицированию SARS-CoV-2 в таких популяциях пациентов [18]. Пожилой возраст характеризуется прогрессирующей дисрегуляцией врожденной иммунной системы (т.е. старением иммунитета), что приводит к стойкому базальному состоянию воспаления и замедленному или ослабленному ответу на инфекции [210]. Кроме того, старение сопровождается структурными и функциональными изменениями сосудистой сети, приводящими к прогрессирующей дисфункции эндотелиальных клеток [13]. У пожилых людей способность поддерживать сосудистый гомеостаз за счет выработки NO или за счет восприятия воздействия окружающей среды значительно снижена [67].

Таким образом, у пациентов с тяжелым течением COVID-19 часто наблюдается уже существующая эндотелиальная дисфункция (рис. 6).



Рисунок 6 – Степень ранее существовавшей эндотелиальной дисфункции утяжеляет течение инфекции SARS-CoV-2 [76].

Такие состояния в сочетании с прямым воздействием SARS-CoV-2 на эндотелий сосудов могут быть причиной высокой смертности от COVID-19 в этой популяции пациентов.

У пациентов с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции отмечается выраженное нарушение гемостатического равновесия, что влечет за собой высокий риск развития гиперкоагуляционного состояния с нарушением фибринолиза. Вирусная коагулопатия не является чем-то новым, учитывая аналогичные наблюдения при SARS classic, включая активацию тромбоцитов, выработку тромбина и увеличение количества продуктов распада фибрина, что свидетельствует о явном синдроме, подобном диссеминированному внутрисосудистому свертыванию [161]. Установлено, что патофизиология ДВС-синдрома, ассоциированного с COVID-19, отличается от патофизиологии септического тем, что он включает и макро- и микротромбоз [44], что подтверждается аутопсийными исследованиями [179]. Ограниченные литературные данные свидетельствуют о высокой частоте тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии у 40% пациентов,

несмотря на использование в большинстве случаев стандартной дозы низкомолекулярного гепарина [74]. Отмечено, что ТЭЛА, ассоциированная с COVID-19, встречается на 13% чаще, чем ассоциированная с гриппом [185].

У реанимационных больных, инфицированных SARS-CoV-2, фиксировалась коагулопатия, проявляющаяся более высоким уровнем D-димер и фибриногена, удлинением протромбинового времени, тромбоцитопенией, чем у пациентов с менее тяжелыми симптомами [65]. Leo Nicolai и соавторы (2020) обнаружили, что в микрососудах легких, почках и сердце присутствуют тромбы, содержащие внеклеточные ловушки нейтрофилов, тромбоциты и фибрин [126].

Высокий уровень фибриногена практически всегда наблюдается у пациентов с COVID-19, вне зависимости от тяжести заболевания [104,213]. В частности, значения в пределах 6–7 г/л не являются редкостью. Это подчеркивает важность мониторинга уровней фибриногена при управлении состоянием таких пациентов.

Литературные данные также подтверждают важность антикоагулянтов в лечении COVID-19. У пациентов в критическом состоянии, которые активно получали стероиды и антикоагулянты, наблюдалось значительное и прогрессирующее снижение уровня фибриногена [64]. Однако исследования не выявили различий в результатах между пациентами, получавшими низкие и высокие дозы антикоагулянтов [89]. Это указывает на то, что ключевым фактором является сам факт антикоагулянтной терапии, а не ее дозировка.

Существуют противоречивые данные относительно связи между тяжестью заболевания COVID-19 и наличием тромботических осложнений. В одних исследованиях у пациентов с тромботическими осложнениями наблюдался повышенный уровень фибриногена [94, 180], в то время как в других этого не отмечалось [50]. В крупном исследовании Jun-Ying Li (2021) и соавторы продемонстрировали значительно низкий уровень фибриногена у пациентов с венозной тромбоэмболией по сравнению с пациентами без нее [220].

Некоторые исследования указывают на то, что более тяжелое течение COVID-19 связано с повышенным уровнем фибриногена [89,187]. Однако другие работы не смогли подтвердить эту корреляцию, указывая на отсутствие значительных различий в уровнях фибриногена в зависимости от тяжести заболевания [181, 213].

Возможно, это связано с различиями в подходах к исследованию.

Интересно, что воспалительный триггер для образования фибриногена был четко выделен в исследовании Ranucci (2020) и соавторов, где была обнаружена существенная связь между значениями ИЛ-6 и уровнем фибриногена [213]. Связь между уровнем фибриногена и исходом у пациентов COVID-19 отражает ту же неопределенность, что и связь между уровнем фибриногена и сердечно-сосудистым риском. В кратком обзоре этого вопроса Jesko Thachil (2020) представил концепцию потенциальной защитной роли фибриногена при инфекционных заболеваниях [203]. В присутствии микробной агрессии фибриноген действует как острофазный белок, направленный на защиту организма. Фибриноген является лигандом лейкоцитарного интегрина, регулирующего воспалительную реакцию; кроме того, само по себе образование тромбов может ограничивать распространение проникающих патогенов главным образом на уровне легких. Jesko Thachil (2020) так же предложил гипотезу, объясняющую многоступенчатый механизм развития гиперфибриногенемии у пациентов с COVID-19. На первом этапе центральная роль отводится ограничению чрезмерной воспалительной реакции, что может оказывать положительное воздействие. Затем наступает фаза, в которой на первый план выходит тромбообразование, характеризующееся умеренным повышением уровня D-димера и низкой интенсивностью. В конечном итоге массивное тромбообразование приводит к снижению уровня фибриногена, сопровождающемуся значительным увеличением D-димера. Согласно этой теории, соотношение фибриногена и D-димера может служить индикатором затяжного течения заболевания и его прогрессирования в более тяжелую форму. На последней стадии заболевания

низкий уровень фибриногена и тромбоцитов способствует возникновению геморрагических осложнений [203].

С момента появления первых сообщений о случаях заражения COVID-19 из Китая повышенный уровень D-димер был обычным явлением. В серии исследований Wu С. и соавторов (2020) у пациентов с ОРДС уровень D-димера был в два раза выше, чем у пациентов без ОРДС (1,16 мкг/мл против 0,52 мкг/мл), а у умерших – в восемь раз выше, чем у выживших (3,95 мкг/мл против 0,49 мкг/мл) [189]. Wang D. и его коллеги (2020) сообщают, что значения D-димера были значительно ($p=0,001$) выше в отделении интенсивной терапии (414 мг/л), чем у пациентов, находящихся в других отделениях (166 мг/л) [58]. Аналогичные различия были замечены Huang С. и его коллегами (2020) [59]. Chen N. и его коллеги (2020) обнаружили аномально повышенный уровень D-димера у 36% своих пациентов [103].

В итоге COVID-19 привлек внимание к фибринолитической системе. D-димер стал очень важным, но в то же время противоречивым тестом. Он обладает потенциалом быть маркером острого повреждения легких, а не исключительно венозной тромбоэмболии. Однако загадка локализованного гиперфибринолиза, о чем свидетельствуют высокие уровни D-димера, происходящего одновременно с системным гипофибринолизом, подтверждаемым увеличением более сложных маркеров этой части гемостатической системы, интригует и требует гораздо более глубокого исследования.

В. Engelmann и S. Massberg (2013) впервые описали внутренний эффекторный путь врожденного иммунитета, называемый иммунотромбозом, который запускается патогенами и поврежденными клетками для ограничения пагубного воздействия вторгшихся патогенов (рис. 7) [102].

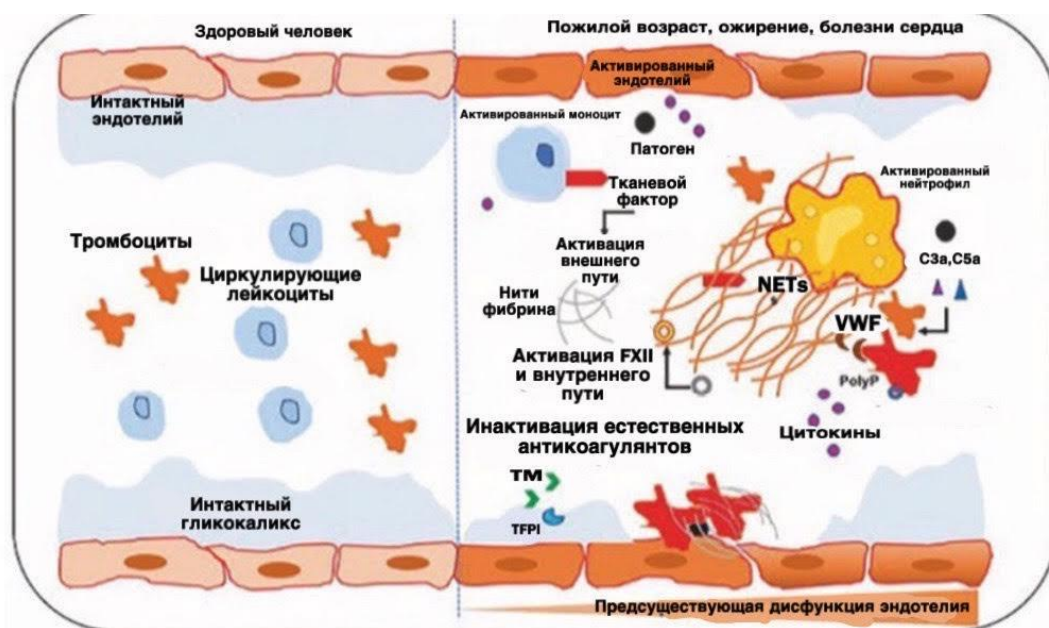


Рисунок 7 – Механизм развития иммунотромбоза [102].

Иммунотромбоз представляет собой защитный механизм организма, направленный на ограничение распространения патогенов и минимизацию повреждений тканей. Этот процесс включает взаимодействие иммунных клеток и компонентов системы гемостаза для формирования микрососудистых тромбов, которые задерживают патогены и предотвращают их системное распространение. В контексте COVID-19 иммунотромбоз приобретает особое значение, так как вирус SARS-CoV-2 провоцирует выраженную воспалительную реакцию, которая, в свою очередь, активирует систему свертывания крови.

Пока иммунотромбоз остается под контролем, он может считаться полезным механизмом врожденного внутрисосудистого иммунитета. Однако, когда иммунотромбоз выходит из-под контроля, это приводит к постоянной и неконтролируемой активации свертывания крови, что влечет за собой развитие микро- и макротромбозов, процесс, известный как тромбовоспаление [153].

В основе гипертрофированного иммунотромбоза или тромбовоспаления лежит потеря нормальных антитромботических и противовоспалительных функций эндотелиальными клетками, что приводит к нарушению регуляции

свертывания, комплементации и активации тромбоцитов, а также к увеличению количества лейкоцитов в микроциркуляции.

При иммунотромбозе активированные нейтрофилы и моноциты экспрессируют и высвобождают тканевой фактор в местах локализации патогена, что приводит к активации внешнего пути свертывания крови (свертывание, вызванное воспалением). Кроме того, повышенные уровни цитокинов, таких как интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли-альфа, усиливают воспаление и коагуляцию, что приводит к развитию тромбов в мелких сосудах. Сопутствующий выброс провоспалительных цитокинов способствует дальнейшему привлечению и активации нейтрофилов.

Нейтрофилы способствуют развитию иммунотромбоза за счет высвобождения внеклеточных ловушек (рис. 8).

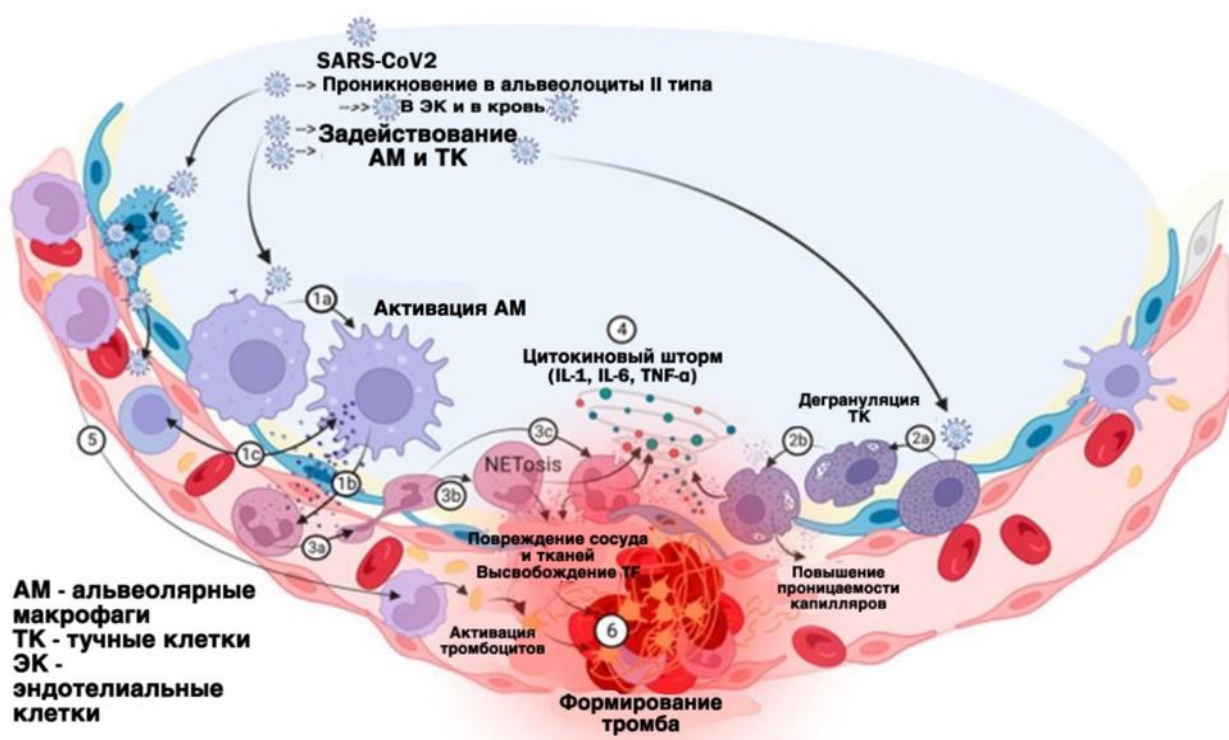


Рисунок 8 – Роль нейтрофилов в формировании тромба при COVID-19[156].

Они представляют собой организованные выделения хроматина зрелых нейтрофилов и выполняют множество функций, включая антибактериальную и протромботическую активность. Эти структуры способствуют захвату и

уничтожению вирусных частиц, однако они также могут способствовать тромбообразованию, активируя тромбоциты и коагуляционные факторы.

Продукты нетоза способны разрушать компоненты эндотелиального гликокаликса, такие как TFPI и TM, что делает эндотелиоциты очень тромбогенными [55].

Тромбоциты играют ключевую роль в этом процессе. Они непосредственно связываются с нейтрофилами и активируются [96].

Внеклеточные ловушки нейтрофилов, индуцированные связанным с COVID-19 «цитокиновым штормом», тромбоциты, эритроциты и пути свертывания крови замыкают ось воспаление-эндотелиопатия-тромбоз, способствуя развитию легочных тромботических осложнений, ассоциированных с SARS-CoV-2 [149].

Вирус поражает эндотелий, вызывая его дисфункцию, что приводит к повышенной проницаемости сосудов и увеличению адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к сосудистой стенке. Повреждение эндотелия способствует высвобождению тканевого фактора [21]. Ранее существовавшая дисфункция эндотелия, обусловленная факторами риска (пожилой возраст, сахарный диабет, ожирение, гипертония), делает эндотелий более уязвимым для атаки SARS-CoV-2, предоставляя вирусу благоприятную среду, которая плохо контролируется нормальными защитными механизмами организма (рис.9).



Рисунок 9 – Взаимосвязь воспаления и коагуляции при тяжелой форме COVID-19 [66].

Аутопсийные исследования выявили одновременную локализацию тромбоза и воспаления в легочной сосудистой сети пациентов с COVID-19 [185]. Mitchell W. (2020) выявил взаимосвязь тромбоза и воспаления (тромбовоспаления) при повреждении легких, связанном с COVID-19 [151].

Кроме этого, гистопатологические исследования COVID-19 выявили наличие инфильтратов из мононуклеарных клеток вокруг закупоренных капилляров и нейтрофилов, захваченных фибриновыми тромбами. Тромботическая масса в легочной системе микроциркуляции богата воспалительными клетками, тромбоцитами и сетчатками, что является признаком тромбовоспалительного взрыва. Посмертная демонстрация микрососудистой дисфункции у пациентов с тяжелой формой COVID-19 убедительно подтверждает, что события, приводящие к атипичному ОРДС в этих условиях, включают «микрососудистый синдром обструктивного тромбовоспаления легочных сосудов COVID-19» (MicroCLOTS) [150].

Подводя итог, можно выделить следующие пусковые механизмы иммунотромбоза при COVID-19:

- Повреждение/дисфункция эндотелия легочных сосудов: значительное повреждение эндотелия, вызванное SARS-CoV-2, нарушает его нормальные антитромботические функции, воздействуя на ключевые механизмы, такие как PGI₂ и NO (ингибиторы активации тромбоцитов), TFPI и активатор протеина C тромбомодулин. Экспозиция тканевого фактора на поврежденный эндотелиальный слой инициирует образование тромбина. Важно отметить, что экспрессия тканевого фактора также регулируется HIF;

- Тромбиновый выброс: тромбин, являясь центральным элементом каскада коагуляции, играет ключевую роль в процессе тромбообразования. В основном тромбин образуется под действием тканевого фактора, который высвобождается после повреждения эндотелиальных клеток, а также активированными моноцитами во время воспалительных процессов. Тканевой фактор является важнейшим элементом, запускающим развитие иммунотромбоза. После своего образования тромбин активно участвует в

тромбозе, активируя тромбоциты, что приводит к высвобождению их гранул и экспрессии фосфолипидов, тем самым инициируя активацию контактного пути. Кроме того, тромбин взаимодействует с эндотелиальными клетками через рецептор PAR1, активируемый протеазой, что вызывает высвобождение VWF из телец Вейбеля-Паладе (WPB). Помимо этого, тромбин отвечает за образование фибрина посредством протеолиза фибриногена. В своей роли в воспалительном процессе тромбин усиливает экспрессию Р-селектина на поверхности эндотелиальных клеток, что способствует привлечению и адгезии лейкоцитов. В свою очередь, активированные лейкоциты выделяют множество воспалительных цитокинов. Ranucci M. и соавторы (2020) отметили, что тяжелые формы острых респираторных заболеваний, вызванных COVID-19, сопровождаются усиленной продукцией тромбина [76]. При последующем наблюдении было установлено, что у выживших пациентов выработка тромбина значительно снижалась, тогда как у тех, кто не выжил, она продолжала расти. Jin X. и коллеги (2020) также выявили высокую активность тромбина у пациентов с тяжелым течением COVID-19, что проявлялось повышенными уровнями комплексов тромбин-анти тромбин [218]. Значение тромбина в развитии тромбоэмболических осложнений при COVID-19 было широко изучено, однако до сих пор отсутствует единый подход к антикоагулянтной терапии (например, с применением гепарина) для его нейтрализации.

- Гипофибринолитическое состояние: в ряде исследований было выявлено нарушение фибринолиза у пациентов с COVID-19 [124, 127]. Остановка фибринолиза вместе со взрывом тромбина, по-видимому, играет важную роль в коагулопатии, связанной с COVID-19, и в развитии макро- и микротромбозов.

- Активация тромбоцитов: Основным активатором тромбоцитов является тромбин, а активация тромбоцитов лежит в основе образования тромба. Тромбоциты поддерживают тромботический процесс, активируя контактный путь посредством экспрессии полифосфатов. В дополнение

тромбоциты активируются компонентами системы комплемента C3a и C5a. Активированные тромбоциты продуцируют множество воспалительных цитокинов, которые привлекают дополнительные лейкоциты к растущим тромбам. Кроме того, тромбоциты связывают, активируют и побуждают лейкоциты образовывать сети.

– Роль нетоза: сети, по-видимому, играют важную роль в регулировании иммунотромбоза, обладая как провоспалительным, так и тромбогенным действием, поскольку задерживают TFPI на поверхности эндотелиоцитов, тем самым подавляя их нормальную фибринолитическую активность. Их уровень в крови заметно повышен у пациентов с ОРДС COVID-19 [184]. Middleton E. и его коллеги (2020) выявили увеличение образования нейтрофильных ловушек, микротромбов с нейтрофилами в легких, сердце и почках при COVID-19 [155].

1.2. Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты в норме и их роль в развитии COVID-19

Лейкоцитарно-тромбоцитарные агрегаты (ЛТК) – это различные соединения из лейкоцитов и тромбоцитов, связанных специфическими рецепторами [171]. У здоровых людей тромбоциты образуют агрегаты в основном с моноцитами (4,1–7,2%), за которыми следуют нейтрофилы (3,7–5,7%) и лимфоциты (2,4–5,2%) [171], но референсные диапазоны неизвестны, поскольку отсутствует утвержденный протокол для исследования концентраций ЛТК. Они были обнаружены у взрослых и детей [32,229], их находят не только у человека [47], но и у животных [49]. Средний размер лейкоцитарно–тромбоцитарного коагрегата составляет около 9 микрометров (мкм) [216].

Учитывая тот или иной патологический процесс, тромбоциты могут усиливать или уменьшать продукцию цитокинов лейкоцитами, что позволяет организму сбалансировать реакцию [173]. Белые кровяные клетки, в свою очередь, также модулируют функцию кровяных пластинок [91].

Существует три сценария, по которым тромбоциты могут взаимодействовать с лейкоцитами:

- тромбоциты адгезируют к белкам субэндотелиального матрикса при повреждении эндотелиальных клеток и активируются на них, а затем привлекают лейкоциты в растущий тромб [194];

- тромбоциты взаимодействуют со стимулированными эндотелиальными клетками и активируются на них, а затем соединяются с переносимыми кровью лейкоцитами [196];

- агрегация тромбоцитов и лейкоцитов происходит в крови, приводя к образованию гетеротипических агрегатов до контакта с эндотелиальными клетками [175]. То есть они могут находиться в виде свободных комплексов или связываться со стенками сосудов. Известно, что тромбоциты могут также связывать апоптотические лейкоциты [119].

Первым этапом взаимосвязи лейкоцитов и тромбоцитов является соединение Р-селектина (CD62P) (экспрессируемого только при активации) на поверхности плазматической мембраны кровяных пластинок с лигандом PSGL-1 (CD162), который постоянно находится на поверхности лейкоцитов [169], а именно миелоидных и лимфоидных клеток [168]. Данный лиганд может взаимодействовать со всеми тремя селектинами, но с разным сродством [214]. Р-селектин связывается с N-концевыми остатками сульфатированного тирозина PGSL-1. Внеклеточный домен PGSL-1 содержит так называемые декамерные повторы, которые расширяют сайты связывания для селектинов [14, 31]. Эта центральная связь укрепляется и стабилизируется путем связывания гликопротеина тромбоцитов Iba (GPIba, CD42b, компонент комплекса GP Ib-IX-V, рецептор тромбоцитарного фактора Виллебранда) с молекулой Mac-1 (CD11b/CD18) на клеточной мембране белых кровяных телец [34]. Помимо этого, интегрин Mac-1 может связываться с GPIIb / IIIa тромбоцитов [193]. Параллельно коммуницируются CD40 на поверхности лейкоцитов с соответствующим лигандом CD40L (CD154) (рис. 10) [52].

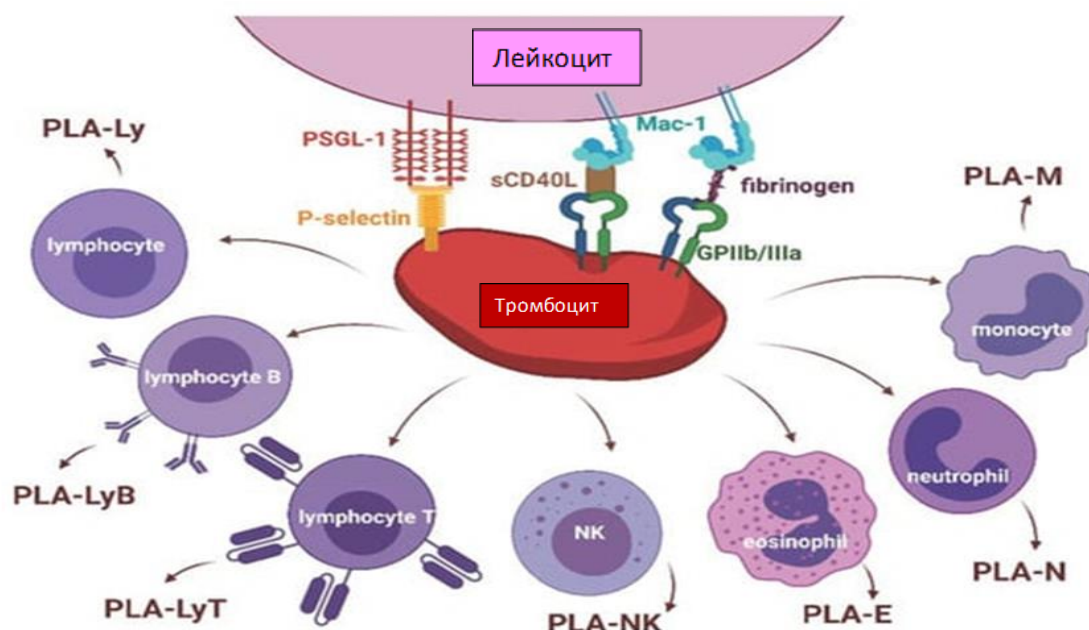


Рисунок 10 – Молекулы, связывающие тромбоциты с лейкоцитами в тромбоцитарно–лейкоцитарных агрегатах и подгруппах тромбоцитарно–лейкоцитарных агрегатов [52].

Биохимические субстанции, связанные с тромбозом, такие как аденозиндифосфат, коллаген, фактор активации тромбоцитов и тромбин, повышают уровень лейкоцитарно–тромбоцитарных коагрегатов по сравнению с отсутствием стимуляции [172]. Точно так же провоспалительный N-формилметиониллейцилфенилаланин (fMLP), серотонин и фактор-1 α , полученный из стромальных клеток (CXCL12), увеличивают образование ЛТК по сравнению с отсутствием стимуляции, но этот эффект будет ниже, чем индуцированный протромботическими агентами. Липополисахарид (LPS) и ИЛ-1 β усиливали образование ЛТК только в низких концентрациях [215]. Стимуляцию образования ЛТА с помощью ЛПС можно удлинять при повышении температуры инкубации образцов с 37 °C до 38 °C. Дальнейшее повышение температуры до 39 °C снижает адгезию лейкоцитов к тромбоцитам по сравнению с 37 °C [133]. Повреждение сосудов также стимулирует образование ЛТК [215]. Низкое соотношение тромбоцитов к лейкоцитам [171], нитридоксид и натрийуретический пептид С-типа (CNP) [63], а также метилирование рецептора агрегации тромбоцитов-эндотелия-1 (PEAR -1) [225] уменьшают образование ЛТА. Наличие более высокой, чем

физиологическая концентрации лейкоцитов ингибирует образование лейкоцитарно–тромбоцитарных коагратов после стимуляции агонистом рецептора, активируемого протеиназой (рецептор тромбина на тромбоцитах) [83]. Интересно, что NO - основной ингибитор образования ЛТК [177], поэтому S-нитрозо-глутатион или нитропруссид натрия – снижают стимулированное тромбином образование ЛТК [183]. CNP высвобождается из эндотелия и защищает от повреждения при ишемии миокарда. Добавление CNP к образцам крови, взятым у здоровых людей, снижало образование ЛТА, стимулированное TRAP, по сравнению с отсутствием CNP. PEAR-1 присутствует среди прочих на тромбоцитах и отвечает за межклеточные взаимодействия [165]. Специфический паттерн метилирования PEAR-1 отрицательно связан с МТК [225].

Повышение количества тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов в кровотоке и/или локально в месте воспаления представляет собой маркер многих тромбовоспалительных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, острые повреждения легких, почечные и церебральные воспаления [217].

Для COVID-19 -инфекции характерно гиперактивированное состояние тромбоцитов, высокая экспрессия Р-селектина и увеличенное количество лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов [84].

Нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты

Тромбоциты и микровезикулы, происходящие из тромбоцитов, могут напрямую взаимодействовать с нейтрофилами и усиливать фагоцитоз различных бактерий, например, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Neisseria meningitidis* и *Streptococcus pyogenes* [56], тем самым способствуя клиренсу бактерий. Leppkes M.B. и коллеги обнаружили нейтрофильные внеклеточные ловушки при закупорке микрососудов при COVID–19 [227]. Кроме того, было обнаружено повышение уровня тромбоцитарного фактора-4 в плазме крови пациента с COVID-19, а

признаки нетоза были обнаружены в легочной ткани пациента с COVID-19, которая также была богата тромбоцитарным фактором-4 [155]. Показано, что нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты являются ключевым звеном патогенеза острого повреждения легких [34,140].

Fields A.T. и соавторы (2023) обнаружили, что у пациента с COVID-19 высвобождение тромбоцитов увеличивало количество комплексов миелопероксидазы с дезоксирибонуклеиновой кислотой и индуцировало изменения в экспрессии генов нейтрофилов [90]. Коагрегаты тромбоцитов и нейтрофилов в избытке встречались у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2[88] и при другой патологии [176].

Моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты

Моноциты обладают самой высокой степенью сродства к тромбоцитам из всех клеток лейкоцитарного ряда. Моноцит, вступая в коагрегат с тромбоцитом, повышает антигенпрезентирующую и миграционную способность [122]. Так как этот процесс способствует дифференцировке моноцитов в макрофаги, модулированию высвобождения цитокинов, таких как ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-1, хемокинов (ИЛ-8) и тканевого фактора [31].

В условиях нормы 4,1% всех моноцитов обладают способностью присоединять тромбоциты [193]. При этом на один моноцит адгезируют 2–3 тромбоцита. Взаимодействие осуществляется за счет Р–селектина и PSGL-1 [49].

Классические моноциты (M1) обнаруживают на своей поверхности высокую плотность кластеров дифференцировки 14 (CD14) [223]. Промежуточные моноциты (M2) также имеют значительную экспрессию CD14, но выявляются CD16[223]. Неклассические моноциты (M3) вырабатывают CD16 в качестве своих первичных маркеров, но также положительны по CD14 [223]. Промежуточные моноциты (M2) отличаются высокой способностью образования активных форм кислорода [106]. Подтипы моноцитов можно различать с помощью поверхностных маркеров, включая CD36, CCR2, изотип

DR человеческого лейкоцитарного антигена (HLA-DR), CD11c [153] или транскриптомикой [123]. Однако внутри предложенных подмножеств также существует большая неоднородность [123]. Тем не менее классификация, основанная на экспрессии CD14 и CD16, до сих пор широко используется, в том числе в исследованиях ЛТК. Классические, а также неклассические и промежуточные моноциты связываются с тромбоцитами для создания ЛТК [38]. Классические моноциты играют ключевую роль в фагоцитозе апоптотических клеток, что объясняется их высокой экспрессией скванжер-рецепторов. Кроме того, благодаря значительной экспрессии рецепторов CD11b/CD18 (CR3), эти клетки активно участвуют в фагоцитозе патогенов, опсонизированных компонентами комплемента.

Анализ экспериментальных данных позволяет предположить, что тромбоцитарно–моноцитарные коагрегаты осуществляют регулирование локального гомеостаза как за счет изменения спектра, продуцируемого компонентами этих структур физиологически активных веществ, так и за счет их непосредственного контакта с другими типами клеток, прежде всего эндотелиальными [29].

В 2020 году Le Jonsour A. с соавторами опубликовал исследования моноцитарно-тромбоцитарных агрегатов у пациентов с COVID-19. Они выявили, что количество МТК увеличивается и коррелируют с воспалением и тяжестью течения заболевания [156].

За несколько месяцев до этого исследователь Hottz E. с коллегами опубликовал статью, в которой показал, что повышенная активация тромбоцитов и образование тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов наблюдались у пациентов с тяжелым течением COVID-19, в отличие от пациентов с легким течением [166].

Hottz E. с коллегами (2022) обсуждают, что тромбоциты реагируют на SARS-CoV-2 *in vitro*, хотя и в меньшей степени, по сравнению с тромбоцитами пациентов с COVID-19. Они отмечают, что РНК, белки и вирионы SARS-CoV-2 были обнаружены в тромбоцитах болеющих пациентов. Также они

отмечают, что взаимодействие тромбоцитов и моноцитов активирует как тромбоциты, так и моноциты посредством механизмов, требующих опосредованной TF передачи сигналов PAR1 и PAR2, подпитывая гипервоспаление и гиперкоагуляцию в цикле реципрокной амплификации [174].

При связывании с тромбоцитами классические моноциты человека активируют поверхностный рецептор CD16, вероятно, через производные тромбоциты, трансформирующий фактор роста β (TGF- β), индуцирующий активацию циклооксигеназы 2 и синтез простагландина E2 в моноцитах [41], тем самым пролонгируя процесс альтерации. Hottz E. с коллегами идентифицировали моноциты с высокой экспрессией CD16 и низкой экспрессией HLA-DR как подмножество, в основном взаимодействующее с тромбоцитами при тяжелой форме COVID-19 [174].

Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты

Феномен взаимодействия лимфоцитов и тромбоцитов открыт и детально исследован профессором Ю.А. Витковским и сотрудниками кафедры нормальной физиологии ЧГМА [7].

В крови здоровых людей обнаруживается около 14% лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов [8]. По другим данным, ЛиТК составлял примерно 3% циркулирующих лимфоцитов [163]. Вероятнее всего это связано с различными методиками определения коагрегатов.

Из лимфоцитов с тромбоцитами взаимодействуют Т-лимфоциты, на поверхности которых имеются CD3⁺ и CD4⁺ (Т-хелперы) и NK-лимфоциты, они несут CD16⁺ [113]. Связи образуются с помощью молекул адгезии ICAM-1; интегриновых (α IIb/ β_3 и β_1 связанные интегрины) и неинтегриновых (Р-селектин – PSGL-1 и CD40 – CD40L) мостов [163].

Вне патологии на поверхности лимфоцитов экспрессируется небольшое количество молекул адгезии, необходимых для выхода этих клеток в области венул с высоким эндотелием [162]. Если по какой-то причине эндотелиальная

клетка отсутствует, соответственно нет молекул адгезии, то кровяные пластинки, адгезированные к субэндотелию, помогают лимфоцитам взаимодействовать с коллагеновыми волокнами [4]. Тромбоциты, вступая в контакт с коллагеном, закрывают его антигены для лимфоцитов, выполняя таким образом иммуносупрессивную функцию [135, 136]. Учитывая, что в цитоплазме лимфоцита нет актино-миозинового комплекса, они не могут проходить в ткани через поврежденную сосудистую стенку. В таких случаях тромбоцит способствует переходу лимфоцитов в зону воспаления [5].

Тромбоциты стимулируют адгезию лимфоцитов к экстрацеллюлярному матриксу в условиях тока жидкости, что позволяет им противостоять силе сдвига, способствуют миграции лимфоцитов [197197]. Тромбоциты способствуют взаимодействию лимфоцитов с поврежденной сосудистой стенкой, а также, адгезировавшись на коллагене, уменьшают реакцию лимфоцитов на коллаген как на антиген. Продвигая лимфоциты в очаг повреждения, кровяные пластинки участвуют в выполнении ими своей основной функции. В ходе данного процесса тромбоциты секретируют биологически активные вещества, что влияет на коагуляцию, необходимую для локализации очага воспаления, иммунный ответ и репарацию тканей.

Современная научная литература обнаруживает разнородные данные, сообщающие либо об ингибирующем действии тромбоцитов на эффекторные Т-клетки [114], либо о стимулировании дифференцировки регуляторных Т-клеток [110109], либо даже об индукции дифференцировки клеток Th1/Th17 [173173]. Противоречивые результаты возникают в основном из-за очень разных экспериментальных установок, заболеваний и интересующей подгруппы Т-клеток. Неагрегированные тромбоциты также оказывают большое влияние на Т-клетки снижением экспрессии, пролиферации PD-1 и PD-L1, а также продукции IFN- γ и TNF- α [148].

Zheng M. и его соавторы (2020) считают, что снижение общего пула Т-лимфоцитов, и Т-клеток CD8⁺ и NK, в частности, у пациентов, пораженных вирусом SARS-CoV-2, и особенно у лиц с тяжелой формой COVID-19 и их

функциональное истощение связано с повышенной экспрессией ингибиторного рецептора NKG2A на Т-клетках CD8⁺ и NK. У большого числа реконвалисцентных пациентов диапазон Т-клеток CD8⁺ и NK восстанавливается, процент цитотоксических Т-лимфоцитов NKG2A⁺ и NKNKG2A⁺ снижается по сравнению с показателями до лечения [110].

1.3. Заключение

В развитии COVID-19 можно выделить несколько этапов, и одним из ключевых является поражение лёгочной ткани при проникновении вируса SARS-CoV-2 с участием АПФ II, нарушается баланс РААС в сторону прессорного отдела, что создает предпосылки к развитию имунотромбоза. Одновременно вирус вызывает выделение различных интерлейкинов, например, ИЛ-6 повышает альвеолярно-капиллярную проницаемость, ИЛ-1 β запускает реакцию воспаления. В сумме эти два процесса, а также непосредственное влияние вируса на эндотелиоциты, приводят к его активации, вызывая усиленную экспрессию молекул адгезии с последующим формированием дисфункции. А если у пациента до инфицирования SARS-CoV-2 имелись заболевания с развитием эндотелиальной дисфункции (ожирение, диабет) или физиологическое состояние (возраст), то этот процесс усиливается. Кроме этого, тяжелые формы новой коронавирусной инфекции сопровождаются признаками коагулопатии. Гипервоспаление, эндотелиальная дисфункция и нарушение свертывающей системы крови – это три столпа на базе которых формируется имунотромбоз. Иммунные клетки, цитокины, хемокины и система комплемента являются ключевыми факторами имунотромбоза, поскольку они индуцируют повреждение эндотелиальных клеток и запускают провоспалительные и прокоагулянтные ветви положительной обратной связи [99].

Образование клеточных агрегатов наделено физиологическим смыслом, при взаимодействии клеток крови между собой происходит их взаимоактивация. Взаимодействия тромбоцитов и нейтрофилов усиливают

окислительный взрыв, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек и фагоцитоз, играют важную роль в защите хозяина от патогена, включая вирусы. Показано, что моноциты, инфицированные вместе с тромбоцитами, проявляют усиленную воспалительную активацию и секретируют более высокие уровни воспалительных цитокинов и медиаторы воспаления в плазме пациентов с COVID-19.

Возможность прогнозирования тяжести новой коронавирусной инфекции на ранних этапах патологического процесса и ее осложнений при усугублении течения непосредственно связано с изучением основных механизмов, входящих в патогенез, одним из которых является иммунотромбоз. В связи с чем изучение патологических процессов, лежащих в его основе, протекающих в различные периоды и при разных степенях тяжести COVID-19, поможет в том числе для поиска потенциальных биомаркеров активности воспаления и системы коагуляции для прогнозирования течения COVID-19, а также других нозологий, протекающих с тромбообразованием, что имеет важное научное и практическое значение.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика клинического материала

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2013 – поправки).

Исследования проводились в 2023 году на базе НИИ «Молекулярная медицина» при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (И.о. ректора д.м.н., профессор Н.В. Ларёва).

В исследование включено 158 пациентов с COVID-19, которые проходили лечение в моностационаре ГУЗ «Городская клиническая больница №1» города Читы.

Критерии включения:

- определение РНК вируса SARS-Cov-2 в носоглоточных мазках методом ПЦР;
- старше 30 лет и младше 75 лет.

При первичном распределении пациентов на группы критерием деления по длительности течения заболевания на момент обследования выступил кластерный анализ (метод k-средних). Были выделены следующие кластеры: первый кластер включал пациентов, обследованных с 1 по 7 день болезни (n=50), второй кластер – с 8 по 15 день болезни (n=55) и третий кластер – более 16 дней заболевания (n=53).

После проведения лабораторных исследований и статистической обработки данных выяснилось, что значимые изменения происходят в конце первой и начале второй недели заболевания, поэтому в исследовании мы выбрали забор крови на 6 – 10 день.

При вторичном распределении пациентов (n=105) на группы критерием деления выступала тяжесть течения COVID-19: группа с легким течением

(n=33), группа средней степени тяжести (n=37) и группа с тяжелым течением (сюда же включены пациенты с крайне тяжёлым течением; n=35). При этом пациенты с COVID-19 на момент обследования, болеющие более 16 дня в дальнейшее исследование, не включались.

Группа 1 – с легким течением COVID-19. В данную группу вошли пациенты без клинических проявлений с положительным ПЦР тестом, а также с клиническими проявлениями (температура тела $<38^{\circ}\text{C}$, кашель, слабость, боль в горле).

Группа 2 – пациенты с COVID-19 среднетяжелого течения с клиническими проявлениями заболевания у которых имелись: температура тела $> 38^{\circ}\text{C}$, ЧДД $> 22/\text{мин}$, одышка при физической нагрузке, изменения при КТ (или рентгенографии), типичные для вирусного поражения (объём поражения минимальный или средний; КТ 1-2), $\text{SpO}_2 < 95\%$, СРБ сыворотки крови $> 10 \text{ мг/л}$.

Группа 3 – пациенты с COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения, клиническими критериями включения в данную группу являлись в случае тяжелого течения инфекции: ЧДД $> 30/\text{мин}$, $\text{SpO}_2 \leq 93\%$, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300 \text{ мм рт.ст.}$, снижение уровня сознания, агитация, нестабильная гемодинамика (систолическое АД менее 90 мм рт.ст. или диастолическое менее 60 мм рт.ст. , диурез менее 20 мл/час), изменения в легких при КТ (рентгенография), типичные для вирусного поражения (объём поражения значительный или субтотальный; КТ 3-4), лактат артериальной крови $> 2 \text{ ммоль/л}$, qSOFA > 2 балла; в случае крайне тяжелого течения: ОДН с необходимостью респираторной поддержки (инвазивная вентиляция легких), септический шок, полиорганная недостаточность, изменения в легких при КТ (рентгенография), типичные для вирусного поражения критической степени (объём поражения значительный или субтотальный; КТ 4) или картина ОРДС.

Пациенты средней и тяжелой степени COVID-19 получали терапевтические дозы низкомолекулярных гепаринов в соответствии с клиническими рекомендациями.

Критерии деления пациентов на группы определены в соответствии согласно с актуальными клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19», версия 7 03.06.2020 [10]. Общее количество мужчин в группе с COVID-19 – 75 (47%), женщин – 83 (53%). Средний возраст – 51 год [38; 71]. Среди сопутствующей патологии в группе пациентов с COVID-19 были диагностированы: гипертоническая болезнь (93;63%), атеросклероз (69;47%), ИБС (50;33,7%), сахарный диабет II тип (7;5%), коморбидное ожирение (38;26%). Схема дизайна исследования представлена на рисунке 11.

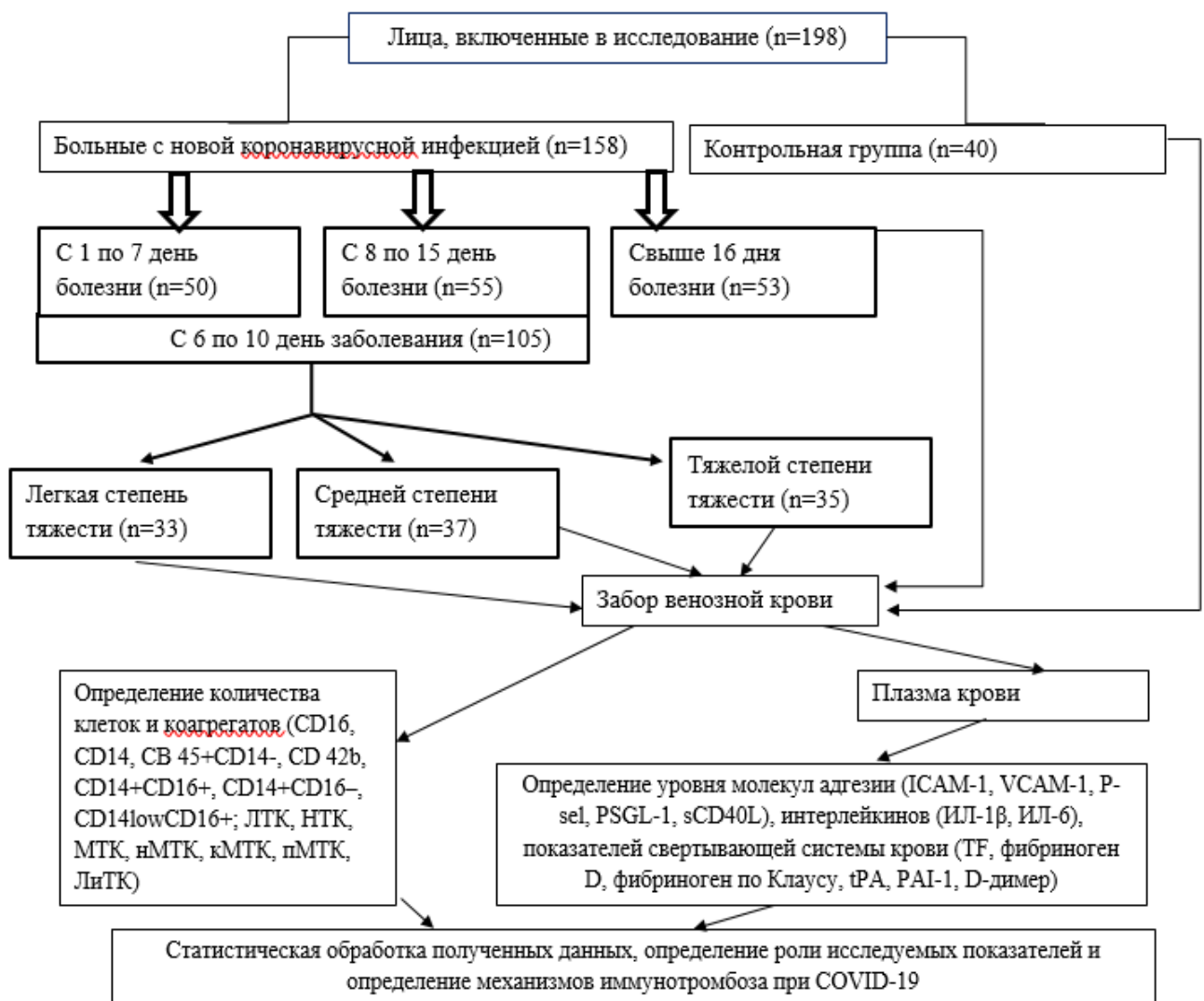


Рисунок 11 – Дизайн исследования

Учитывая, что у пациентов с легкой степенью тяжести проведение исследования газов крови не целесообразно, нами был использован показатель отношения насыщения крови кислородом, исследованный методом пульсоксиметрии, к вдыхаемой фракции кислорода (SpO_2/FiO_2) [26; 45]. Другие клинические характеристики пациентов с COVID-19 представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Характеристика пациентов, включенных в исследование и разделенных на группы по степени тяжести

Параметры	Группа контроля (n=40)	Легкой степени тяжести (n=33)	Средней степени тяжести (n=37)	Тяжелое течение (n=35)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Пол Женский /мужской	20/20	20/12	20/17	17/17	H=1,671 p=0,644
Возраст Me (25;75)	50 (39;70)	55 (38;65)	56 (52;60)	66 (57;71)	H=16,8 p <0,001
SpO_2/FiO_2 , %	467 (467;471)	462 (457;467)	330 (320;457) $p_{к-2}<0,001$ $p_{1-2}<0,001$	192 (141;313) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,001$	H=78,3 p <0,001
Температура тела, °C	36,6 (36,6;36,6)	36,8 (36,7;38,0) $p_{к-1}=0,003$	38,0 (36,8;38,7) $p_{к-2}<0,001$	38,0 (37,0;38,0) $p_{к-3}<0,001$	H=25,254 p <0,001
ЧДД, кол. в мин	16 (16;16)	18 (17;18) $p_{к-1}<0,001$	18 (18;19) $p_{к-2}<0,001$	19,5 (18;20) $p_{к-1}<0,001$ $p_{1-3}=0,007$ $p_{2-3}=0,024$	H=43,289 p <0,001
C-реактивный белок, мг/л	6 (6;6)	12 (6;24) $p_{к-1}=0,021$	24 (12;48) $p_{к-2}<0,001$ $p_{1-2}=0,010$	48 (24;71) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-2}<0,01$	H=36,663 p <0,001

Продолжение таблицы 1

Параметры	Группа контроля (n=40)	Легкой степени тяжести (n=33)	Средней степени тяжести (n=37)	Тяжелое течение (n=35)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Систолическое артериальное давление, мм рт.ст.	120 (120;120)	123 (120;130)	130 (120;135) p_{к-1}=0,017	120 (110;135)	H=8,289 p=0,040
Диастолическое артериальное давление, мм рт.ст.	80 (80;80)	80 (80;80)	80 (80;84)	80 (70;90)	H=0,935 p _{общ} =0,817
Распределение больных по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (площадь поражения легочной ткани)	0 (0; 0)	0 (0;1)	2* (1;2) p₁₋₂< 0,001	3** (3;4) p₁₋₂< 0,001 p₂₋₃< 0,001	H=55,431 p<0,001

Примечание:

*– КТ 2 - 68%

**– КТ 3 -58%, К4 – 42%

Таблица 2 Клинические проявления у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести (%; абс.ч)

Степень тяжести заболевания / Клиническое проявление	Легкое течение (n=33)	Среднетяжелое течение (n=37)	Тяжелое течение (n=35)
Лихорадка	19%; 6	89%; 33	59%;20
Субфебрильная (37,0–38,0 °С)	50%; 3	12%; 4	15; 3
Фебрильная (38,1–39,0 °С)	33%; 2	30%; 10	45; 9
Пиретическая (39,1–39,5 °С)	17; 1	48%; 16	30; 6
Гиперпиретическая (> 39,6 °С)	0	10%; 3	10%; 2
Першение/боль в горле	0%; 0	48%;16	3%; 1
Одышка	6%; 2	70%; 26	70%; 24
Кашель сухой	31%; 10	81%; 30	59%; 20
Кашель с мокротой	17%; 5	48%; 16	38%; 13

Продолжение таблицы 2

Степень тяжести заболевания Клиническое проявление	Легкое течение (n=33)	Среднетяжелое течение (n=37)	Тяжелое течение (n=35)
Кровохарканье	0%; 0	48%; 16	0; 0
Боли в грудной клетке	0%; 0	48%; 16	9%; 3
Синдром интоксикации	34%; 11	100%; 37	70%; 24
Тахикардия	22%; 7	49%; 17	68%; 23
Брадикардия	0%; 0	11%; 4	6%; 2
Снижение обоняния	9%; 3	24%; 9	15%; 5
Заложенность носа	0%; 0	89%; 33	3%; 1
Ринорея	3%; 1	37%; 6	3%; 1
Отеки на нижних конечностях	0%; 0	8%; 3	12%; 4
Жидкий стул	0%; 0	35%; 13	18%; 6
Миалгия	3%; 1	76%; 28	35%; 12

Группа контроля сформирована из 40 человек, проходивших обследование в ЧУЗ «КБ «РЖД-Медицина» г. Чита». Количество мужчин составило 20 (50%), женщин – 20 (50%). Средний возраст лиц, включенных в группу сравнения 50 лет [39; 70].

Критерии не включения в исследование: лица младше 30 лет и старше 75 лет, не болеющие COVID-19, инфицированные ВИЧ, вирусами гепатитов В и С, с декомпенсированными сердечно-сосудистыми заболеваниями, почечной и печеночной недостаточностью, онкопатологией, беременные, наследственные тромбоцитопении/патии, аутоиммунные тромбоцитопении, агранулоцитозы.

Критерии исключения из исследования: пациенты с неподтвержденным COVID-19, проведение таргетной терапии COVID-19, отказ от участия.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Клинические методы исследования

В обследовании больных с новой коронавирусной инфекцией, согласно данным истории болезни, применялись стандартные методы, используемые в клинических рекомендациях, утвержденных Министерством здравоохранения Российской Федерации [10].

2.2.2. Лабораторные методы исследования

Все лабораторные исследования проводились в день взятия крови. Определение количества **клеток крови и лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов** проводили на проточном цитофлюориметре Cyto FLEX LX (BeckmanCoulter, США), оснащенном четырьмя диодными лазерами 355, 405, 488 и 561 нм. Для выявления основных популяций лейкоцитов, субпопуляций моноцитов и лейкоцитарно–тромбоцитарных комплексов использовались следующие антитела производства Beckman Coulter, США: CD42a–FITC (клон SZ1, кат. № IM1757U), TCR PAN α/β –PE (клон IP26A, кат. № B49177), CD19–ECD (клон J3–119, кат. № IM2708U), CD14–PC5 (клон RMO52, кат. № IM2640U), CD56–PC7 (клон N901 (NKH–1), кат. № A51078), CD16–Pacific Blue (клон 3G8, кат. № A82792), CD45–Krome Orange (клон J.33, кат. № A96416); антитела производства Becton Dickinson, США: CD4–BUV395 (клон RPA–T4, кат. № 564724), CD8–BUV496 (клон RPA–T8, кат. № 612942), CD3–BUV661 (клон UCHT1, кат. № 612964); антитела производства Biolegend, США: HLA–DR–Brilliant Violet 785™ (клон L243, кат. № 307642). Удаление эритроцитов из образцов осуществляли при помощи коммерческого лизирующего раствора BD FACSTM Lysing Solution (кат. № 349202, Becton Dickinson, США). По завершении инкубации образцы однократно отмывали от несвязавшихся антител избытком забуференного фосфатами физиологического раствора (7 минут при 300 g). А полученный клеточный осадок ресуспендировали в 300 мкл забуференного фосфатами физиологического раствора, содержавшего 1% нейтрального параформальдегида (кат. № HT5011, Sigma-Aldrich, США). Абсолютные значения были получены в одноплатформенной системе с помощью реагента

FlowCount™ (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировалось не менее 50000 лимфоцитов периферической крови.

Определение уровня **TF, D-димера, tPA, PAI-1, P-selectin, PSGL-1** проводили на проточном цитофлуориметре Cyto FLEX LX (Beckman Coulter, США) с помощью панели LEGENDplex™ Human Thrombosis Mix and Match Subpanel; количественных характеристик **ИЛ-1β, ИЛ-6, ICAM-1, VCAM-1 и sCD40L** с использованием мультиплексной панели LEGENDplex™ Human Vascular Inflammation Panel.

Исследование уровня **фибриногена** пациентам проводили в ГУЗ «Городская клиническая больница № 1 города Читы» на анализаторе Sysmex CA-600. Уровень **фибриногена D** определялся с использованием высокочувствительного реагента тромбопластина на основе рекомбинантного человеческого тканевого фактора (RTF). Тест определения концентрации **фибриногена по Клаусу** проводился с помощью тромбина.

2.2.3. Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ jamovi (Version 2.4.1) [208]. При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов и медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL).

Учитывая численность исследуемых групп, оценка нормальности распределения признаков оценивалась с помощью W-критерия Шапиро-Уилка, который в данной ситуации является наиболее эффективным, так как он обладает большей мощностью по сравнению с альтернативными критериями проверки нормальности. Принимая во внимание распределение признаков, отличное от нормального, интервальные данные представлялись в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ CytExpert

software v.2.0 и Kaluza™ v.2.1.1 (Beckman Coulter, США). Процедура множественных сравнений реализовывалась с использованием критериев Крускал-Уоллиса. В случае, когда тест Крускал-Уоллиса показывал наличие статистически значимых различий между группами, проводилась процедура множественных апостериорных попарных сравнений методом Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера (Dwass-Steel-Critchlow-Fligner).

Деление обследованных по длительности течения заболевания проводили при помощи кластерного анализа (метод k-средних).

Корреляционный анализ осуществляли по методу Спирмена. Статистически значимыми считались данные при количественной характеристике случайностей (p-значение) менее 0,05. Интерпретация коэффициента корреляции производится исходя из уровня силы связи:

$r > 0,01 \leq 0,29$ – слабая положительная связь,

$r > 0,30 \leq 0,69$ – умеренная положительная связь,

$r > 0,70 \leq 1,00$ – сильная положительная связь,

$r > -0,01 \leq -0,29$ – слабая отрицательная связь,

$r > -0,30 \leq -0,69$ – умеренная отрицательная связь,

$r > -0,70 \leq -1,00$ – сильная отрицательная связь.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Количественные характеристики клеток крови и коагратов в зависимости от дня заболевания COVID-19

При анализе количества некоторых клеток крови в зависимости от дня заболевания выяснилось, что общее число лейкоцитов не зависело от дня заболевания и находилось в границах референсных значений, однако было ниже, чем у лиц, входящих в контрольную группу: на первой неделе – на 45 % ($p_{к-1} < 0,001$), во второй – на 47% ($p_{к-2} < 0,001$). Количество нейтрофилов на второй неделе заболевания стало ниже на 65 % по сравнению с контролем ($p_{к-2} = 0,013$). Лимфоцитопения регистрировалась у всех обследованных с COVID-19 по сравнению с группой контроля. Самые низкие показатели зафиксированы с 1 по 7 день заболевания ($p_{к-1} < 0,001$). Число моноцитов и тромбоцитов не отличалось от группы контроля (табл. 3, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 3 – Общее число лейкоцитов, их подвидов и тромбоцитов в зависимости от дня заболевания COVID–19 (кл/мл)

Показатели	Контрольная группа (n=40)	С 1 по 7 день заболевания (n=50)	С 8 по 15 день заболевания (n=55)	Больше 16 дня (n=53)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Лейкоциты	9673 (8609; 12650)	5356 (4030; 6235) $p_{к-1} < 0,001$	5172 (4007; 6691) $p_{к-2} < 0,001$ $p_{1-2} = 1$	6690 (4936; 7386) $p_{к-3} = 0,111$ $p_{1-3} = 0,714$ $p_{2-3} = 0,499$	$H = 20,582$, $p < 0,001$
Нейтрофилы	5155 (4089; 6385)	3546 (2146; 4268) $p_{к-1} = 0,098$	3361 (1989; 4187) $p_{к-2} = 0,013$	3919 (2562; 6300) $p_{к-3} = 0,877$ $p_{1-3} = 0,969$ $p_{2-3} = 0,732$	$H = 8,961$, $p = 0,032$

Продолжение таблицы 3

Показатели	Контрольная группа (n=40)	С 1 по 7 день заболевания (n=50)	С 8 по 15 день заболевания (n=55)	Больше 16 дня (n=53)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Моноциты	542 (411; 695)	481 (303; 661)	488 (401; 636)	552 (339; 743)	H=1,143, p=0,766
Лимфоциты	4665 (3267; 5676)	889 (608; 1358) p_{к-1} < 0,001	1254 (884; 1766) p_{к-2} < 0,001 p ₁₋₂ =0,116	1308 (927; 1576) p_{к-3} = 0,004 p ₁₋₃ =0,800 p ₂₋₃ =0,997	H=32,781, p < 0,001
Тромбоциты	250 (198; 285)	207 (166; 249)	220 (176; 271)	167 (152; 247)	H=3,57, p=0,321

У заболевших COVID-19 количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов по сравнению с группой контроля на первой и второй неделях болезни было выше в три раза ($p_{к-1}=0,001$, $p_{к-2}<0,001$). При сравнении с контрольной группой было меньше число моноцитарно-тромбоцитарных розеток – на 41% в первую неделю ($p_{к-1}=0,001$) и на 43% во вторую ($p_{к-2}<0,001$), и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов на 70% с 1 по 7 день ($p_{к-1}=0,001$) и на 62% с 8 по 15 день ($p_{к-2}=0,012$) (табл. 4, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 4 – Числовая характеристика клеточных коагратов в зависимости от дня заболевания COVID–19 (кл/мл)

Показатели	Контрольная группа (n=40)	С 1 по 7 день заболевания (n=50)	С 8 по 15 день заболевания (n=55)	Больше 16 дня (n=53)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коаграты	1657 (1262; 1868)	2231 (1598; 3144)	2147 (1676; 2964)	1366 (1037; 1658)	H=4,833, p=0,184
Нейтрофильно-тромбоцитарные коаграты	478 (361; 585)	1460 (731; 2077) p_{к-1} = 0,001	1453 (966; 1836) p_{к-2} < 0,001 p ₁₋₂ =0,994	871 (476; 1063) p _{к-3} =0,732 p ₁₋₃ =0,619 p ₂₋₃ =0,399	H=18,154, p < 0,001
Моноцитарно-тромбоцитарные коаграты	742 (540; 1010)	442 (273; 574) p_{к-1} = 0,001	420 (269; 542) p_{к-2} < 0,001 p ₁₋₂ =0,981	288 (152; 544) p _{к-3} =0,71 p ₁₋₃ =0,839 p ₂₋₃ =0,960	H=17,223, p < 0,001

Продолжение таблицы 4

Показатели	Контрольная группа (n=40)	С 1 по 7 день заболевания (n=50)	С 8 по 15 день заболевания (n=55)	Больше 16 дня (n=53)	Критерий Крускал-Уоллиса
	к	1	2	3	
Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	238 (162; 334)	71 (46; 95) $p_{к-1}=0,001$	91,2 (69; 140) $p_{к-2}=0,012$ $p_{1-2}=0,215$	80,9 (34; 126) $p_{к-3}=0,056$ $p_{1-3}=0,999$ $p_{2-3}=0,823$	$H=17,351$, $p < 0,001$

На первой и второй неделях заболевания отмечался дисбаланс количества нейтрофильно-тромбоцитарных, моноцитарно-тромбоцитарных и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов по сравнению с контрольной группой. Поэтому для основной части исследования некоторых патогенетических механизмов COVID-19 для забора крови выбран период с 6 по 10 день болезни.

3.2. Количественные характеристики клеток крови и коагрегатов у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания

Количество лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов у пациентов различных групп в зависимости от степени тяжести не имело статистически значимых различий.

Число классических моноцитов (CD14+CD16–) было выше в первой группе в 3 раза ($p_{к-1} < 0,001$), во второй и третьей группах в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой ($p_{к-2}=0,003$, $p_{к-3} < 0,001$). Количество провоспалительных моноцитов (CD14^{low}CD16+) было ниже в группе с тяжелым течением в 5 раз по сравнению с контрольной ($p_{к-1}=0,002$) и группой со среднетяжелым течением ($p_{2-3}=0,027$).

Во всех исследуемых группах число лимфоцитов было меньше, чем в контрольной группе. В первой и во второй группах в 2,5 раза ($p_{к-1} < 0,001$, $p_{к-2}$

$p_2=0,003$), в третьей в 3,3 раза ($p_{к-3}<0,001$). Между группами с легким течением и тяжелым течением этот показатель также отличался в 1,3 раза ($p_{1-3}=0,027$). Обнаруженная нами лимфопения, отражает иммуносупрессивное воздействие вируса на процессы лимфопоэза.

Число тромбоцитов было наименьшим в третьей группе, где оно отличалось в 1,5 раза от контрольной ($p_{к-1}=0,026$) и от первой группы ($p_{1-3}=0,020$). Эти данные указывают на усиленное образование коагратов у пациентов с тяжелой клинической картиной (табл. 5, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 5 – Количественная характеристика лейкоцитов и тромбоцитов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести, кл/мл

Показатели	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
		1	2	3	
Лейкоциты	8203 (7523; 8873)	5469 (4570; 7103)	6608 (3982; 7689)	6549 (4652; 8944)	H=7,443, p=0,059
Нейтрофилы	4393 (3972; 5596)	3728 (2585; 4956)	4432 (2737; 6009)	4351 (2911; 6750)	H=2,532, p=0,470
Моноциты	542 (411; 695)	540 (411; 694)	425 (339; 521)	483 (246; 694)	H=5,512, p=0,138
Неклассические моноциты CD14+CD16+	20 (16; 34)	27 (16; 52)	25 (17; 34)	37 (16; 73)	H=3,781, p=0,286
Классические моноциты CD14+CD16-	165 (89; 245)	479 (402; 666) $p_{к-1}<0,001$	402 (295; 497) $p_{к-2}=0,003$ $p_{1-2}=0,379$	436 (256; 616) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-3}=0,100$ $p_{2-3}=0,999$	H=28,183, p <0,001
Провоспалитель ные моноциты CD14lowCD16+	33 (23; 40)	11 (4; 32) $p_{к-1}=0,060$	31 (17; 63) $p_{к-2}=0,999$ $p_{1-2}=0,245$	6 (3; 18) $p_{к-3}=0,002$ $p_{1-3}=0,165$ $p_{2-3}=0,027$	H=19,654, p <0,001

Продолжение таблицы 5

Показатели	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
Лимфоциты	2869 (2596; 3300)	1062 (784; 1642) $p_{к-1}<0,001$	1073 (598; 1198) $p_{к-2}=0,003$ $p_{1-2}=0,850$	853 (406; 1247) $p_{к-1}<0,001$ $p_{1-3}=0,022$ $p_{2-3}=0,987$	$H=35,592$, $p<0,001$
Тромбоциты	250 (198; 285)	232 (180; 255) $p_{к-1}=0,726$	194 (133; 250) $p_{к-2}=0,351$ $p_{1-2}=0,678$	169 (137; 249) $p_{к3}=0,026$ $p_{1-3}=0,020$ $p_{2-3}=0,992$	$H=13,142$, $p=0,004$

Общее число лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов у пациентов с COVID-19 не имело статистически значимых различий от степени тяжести заболевания.

Количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов было больше во всех исследуемых группах по сравнению с группой контроля. В первой и третьей группах в 3 раза ($p_{к-1}=0,001$, $p_{к-3}<0,001$), а во второй группе в 3,5 раза ($p_{к-2}=0,001$). Число моноцитарно-тромбоцитарных коагратов было меньше во всех исследуемых группах по сравнению с группой контроля. В первой группе в 1,7 раза ($p_{к-1}=0,001$), во второй и третьей группах в 2,3 раза ($p_{к-2}<0,001$; $p_{к-3}<0,001$). Наименьшие показатели были за счет коагратов с классическими и провоспалительными подфракциями моноцитов при тех же условиях сравнения, что и выше. Количество коагратов с классическими моноцитами в первой группе в 1,4 раза ($p_{к-1}=0,020$), во второй в 1,8 раза ($p_{к-2}<0,001$), в третьей в 2,5 раза ($p_{к-3}<0,001$). При сравнении группы с легким течением и остальными этот показатель также был ниже в 1,2 и 1,7 раза соответственно ($p_{1-2}=0,025$; $p_{1-3}<0,001$). Провоспалительные моноциты также реже были обнаружены в коагрегатах с тромбоцитами по сравнению с контрольной группой: в первой группе в 6,7 раза ($p_{к-1}<0,001$), во второй в 4 раза ($p_{к-2}=0,050$),

в третьей в 12,7 раза ($p_{к-3} < 0,001$). При этом в группе с тяжелым течением данный показатель был в 2 и 3 раза ниже, чем в группах с легким и среднетяжелым течением соответственно ($p_{1-3} = 0,046$; $p_{2-3} = 0,036$). В исследуемых группах пациентов с COVID-19 было зафиксировано, что число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов меньше, чем в контрольной. В первой группе в 3 раза ($p_{к-1} = 0,002$), во второй в 2,3 раза ($p_{к-2} = 0,035$), в третьей в 3,6 раза ($p_{к-3} < 0,001$) (табл. 6, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 6 – Количество лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коаграты	1657 (1262; 1868)	2064 (1420; 3022)	2236 (1848; 2859)	1745 (1410; 3103)	H=2,551, p=0,467
Нейтрофильно-тромбоцитарные коаграты	478 (361; 585)	1393 (802; 1815) $p_{к-1} = 0,001$	1649 (1169; 1896) $p_{к-2} = 0,001$ $p_{1-2} = 0,773$	1466 (854; 2259) $p_{к-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,828$ $p_{2-3} = 0,973$	H=19,113, p < 0,001
Моноцитарно-тромбоцитарные коаграты	742 (540; 1010)	439 (325; 609) $p_{к-1} = 0,001$	324 (212; 402) $p_{к-2} < 0,001$ $p_{1-2} = 0,104$	315 (200; 458) $p_{к-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,062$ $p_{2-3} = 0,975$	H=26,503, p < 0,001
Тромбоцитарные коаграты с неклассическим и моноцитами	23 (10; 37)	19 (13; 47)	21 (10; 36)	28 (12; 54)	H=1,932, p=0,587
Тромбоцитарные коаграты с классическими моноцитами	631 (439; 871)	433 (311; 564) $p_{к-1} = 0,020$	350 (188; 361) $p_{к-2} < 0,001$ $p_{1-2} = 0,025$	250 (151; 378) $p_{к-3} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,994$	H=38,414, p < 0,001
Тромбоцитарные коаграты с провоспалительными моноцитами	45 (30; 102)	7 (3; 17) $p_{к-1} < 0,001$	11 (8; 41) $p_{к-2} = 0,050$ $p_{1-2} = 0,396$	3 (1; 9) $p_{к-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,046$ $p_{2-3} = 0,036$	H=35,853, p < 0,001

Продолжение таблицы 6

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
Лимфоцитарно- тромбоцитарные коагрегаты	238 (162; 334)	80 (60; 139) $p_{к-1}=0,002$	103 (46; 159) $p_{к-2}=0,035$ $p_{1-2}=0,998$	65 (43; 113) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-3}=0,418$ $p_{2-3}=0,886$	$H=18,402$, $p=0,021$

Таким образом, можно сделать вывод, что при сравнении с группой контроля количество классических моноцитов было выше во всех трех группах, в то время как число провоспалительных моноцитов, лимфоцитов и тромбоцитов ниже по мере увеличения тяжести, что свидетельствует об иммуносупрессии, вызванной воздействием вируса. При этом количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагрегатов было выше во всех трех группах при низких моноцитарно-тромбоцитарных коагрегатах, в основном за счет коагрегатов с классическими и провоспалительными моноцитами. Также было наименьшим число коагрегатов с лимфоцитами.

3.3. Количественные показатели факторов, влияющих на образование лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов

Уровень ИЛ-1 β был выше у всех пациентов с COVID-19 по сравнению с группой контроля. У пациентов с легким течением в 4 раза ($p_{к-1}<0,001$), со среднетяжелым и тяжелым течением в 7,4 раза и 7 раз ($p_{к-2}<0,001$; $p_{к-3}=0,018$). Концентрация ИЛ-6 была больше по сравнению с группой контроля. В первой группе в 4 раза ($p_{к-1}<0,001$), во второй в 6 раз ($p_{к-2}=0,004$) и в третьей в 5 раз ($p_{к-3}=0,018$) (табл. 7, данные представлены в виде Ме [25;75]).

Таблица 7 – Уровень интерлейкинов у пациентов с COVID-19 в сыворотке крови в зависимости от степени тяжести (пг/мл)

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал-Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
ИЛ-1 β	6,0 (5; 8)	24 (22; 57) p_{к-1} < 0,001	44 (13; 66) p_{к-2} < 0,001 p ₁₋₂ = 0,993	41 (30; 49) p_{к-3} = 0,018 p ₁₋₃ = 0,996 p ₂₋₃ = 0,984	H = 13,473, p < 0,001
ИЛ-6	3 (2; 5)	14 (9; 22) p_{к-1} < 0,001	21 (10; 25) p_{к-2} = 0,004 p ₁₋₂ = 0,962	19 (17; 20) p_{к-3} = 0,018 p ₁₋₃ = 0,942 p ₂₋₃ = 0,963	H = 32,664, p < 0,001

Между лейкоцитарно-тромбоцитарными, моноцитарно-тромбоцитарными и коагрегатами с классическими моноцитами были обнаружены положительные умеренные корреляционные связи с ИЛ-1 β и ИЛ-6 у пациентов с легким течением. ИЛ-1 β показал такую же по силе и знаку связь с лимфоцитарно-тромбоцитарными коагрегатами. В группе пациентов со среднетяжелым течением данные интерлейкины аналогично коррелировали с провоспалительными моноцитами, вступившими в коагрегаты (табл. 8).

Таблица 8 – Корреляционные связи количества лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов с уровнем интерлейкинов в зависимости от степени тяжести

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
ИЛ-1 β				
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,512**	0,133	-0,06
	p	0,005	0,249	0,759
Моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,460**	0,180	-0,190
	p	0,014	0,118	0,337

Продолжение таблицы 8

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
Тромбоцитарные коагрегаты с классическими моноцитами	r _s	0,522**	0,199	-0,060
	p	0,004	0,083	0,767
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r _s	0,247	0,314**	0,002
	p	0,206	0,05	0,999
Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,480**	0,218	-0,36
	p	0,010	0,057	0,053
ИЛ-6				
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,425**	0,110	0,002
	p	0,024	0,350	0,940
Моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,376**	0,170	-0,110
	p	0,049	0,130	0,560
Тромбоцитарные коагрегаты с классическими моноцитами	r _s	0,415**	0,180	-0,05
	p	0,028	0,120	0,810
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r _s	0,100	0,330**	-0,14
	p	0,613	<0,001	0,460

Примечание

* – слабая связь

** – умеренная связь

*** – сильная связь

При анализе P-selectin и его лиганда PSGL-1 было отмечено что их концентрации выше в 2,5 раза и в 1,8 раза у всех пациентов с COVID-19 по сравнению с группой контроля ($p_{к-1}=0,006$; $p_{к-2}=0,005$; $p_{к-3}=0,019$); ($p_{к-1}=0,001$; $p_{к-2}=0,006$; $p_{к-3}=0,027$).

Уровень молекул клеточной адгезии ICAM-1 был ниже у инфицированных пациентов по сравнению с контрольной группой. С легким и среднетяжелым течением в 14,5 раза ($p_{к-1}<0,001$; $p_{к-2}<0,001$), с тяжелым течением в 2 раза ($p_{к-3}<0,001$). Разница этого показателя между первыми двумя группами и третьей составляет 7-кратное различие ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}=0,047$). Что касается молекул сосудистой адгезии VCAM-1, их максимальная у пациентов с тяжелым течением была больше показателей контрольной группы в 1,6 раза ($p_{к-3}=0,025$), первой группы в 8 раз ($p_{1-3}<0,001$). Уровень молекул sCD40L у пациентов второй группы был в 100 раз больше, чем у лиц контрольной

группы ($p_{к-2} < 0,001$), в первой и в третьей группах в 70 раз ($p_{к-1} < 0,001$) и 68 раз ($p_{к-3} < 0,001$) соответственно (табл. 9, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 9 – Концентрация молекул адгезии у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести, пг/мл

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
P-sel	1718 (1471; 2123)	4296 (2725; 5069) $p_{к-1} = 0,006$	4146 (3602; 5948) $p_{к-2} = 0,005$ $p_{1-2} = 0,836$	4138 (3637; 5827) $p_{к-3} = 0,019$ $p_{1-3} = 0,858$ $p_{2-3} = 1,000$	H=17,364, $p < 0,001$
PSGL-1	1526 (1135; 2179)	2812 (2649; 3142) $p_{к-1} = 0,001$	2890 (2281; 3257) $p_{к-2} = 0,006$ $p_{1-2} = 0,994$	2835 (2712; 3072) $p_{к-3} = 0,027$ $p_{1-3} = 0,987$ $p_{2-3} = 0,997$	H=18,274, $p < 0,001$
ICAM-1	711 (666; 795)	49 (28; 221) $p_{к-1} < 0,001$	49,5 (34; 241) $p_{к-2} < 0,001$ $p_{1-2} = 0,991$	345 (227; 425) $p_{к-1} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,047$	H=50,581, $p < 0,001$
VCAM-1	557 (465; 657)	111 (71,9; 719) $p_{к-1} = 0,203$	128 (94; 720) $p_{к-1} = 0,792$ $p_{1-2} = 0,913$	881 (607; 1137) $p_{к-1} = 0,025$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,099$	H=27,923, $p < 0,001$
sCD40L	544 (408; 597)	37920 (34540; 44256) $p_{к-1} < 0,001$	55008 (36232; 66320) $p_{к-2} < 0,001$ $p_{1-2} = 0,328$	36742 (33050; 44385) $p_{к-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,766$ $p_{2-3} = 0,076$	H=37,741, $p < 0,001$

Во второй группе концентрация P-sel умеренно отрицательно коррелировала с числом тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами. В третьей группе связь была положительной, умеренной с количеством тромбоцитарных коагратов, с неклассическими и провоспалительными моноцитами.

Уровень PSGL-1 умеренно отрицательно коррелировал с числом тромбоцитарных коагратов с неклассическими моноцитами.

У пациентов с легким течением концентрация молекул клеточной адгезии ICAM-1 отрицательно умеренно коррелировала с количеством лимфоцитарных коагратов, в группе со среднетяжелым течением отмечалась слабая связь с числом тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами, у пациентов с тяжелым течением с числом лейкоцитарных коагратов.

В первой группе лиц с COVID-19 для уровня молекул адгезии VCAM-1 была выявлена отрицательная сильная корреляция с количеством лимфоцитарных коагратов, во второй группе слабая с числом тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами.

В группе контроля концентрация молекул адгезии sCD40L положительно сильно коррелировала с числом лимфоцитарных коагратов (табл. 10).

Таблица 10 – Корреляционные связи числа лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов с уровнем молекул адгезии в зависимости от степени тяжести

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
P-sel				
Тромбоцитарные коаграты с неклассическими моноцитами	r_s	0,127	-0,140	0,390**
	p	0,519	0,230	0,040
Тромбоцитарные коаграты с провоспалительными моноцитами	r_s	-1,08	-0,140	0,450**
	p	0,586	0,210	0,020

Продолжение таблицы 10

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
PSGL-1				
Тромбоцитарные коаграты с с неклассическими моноцитами	r_s	0,026	-0,003	-0,370**
	p	0,894	0,982	0,005

ICAM-1					
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты		r _s	-0,019	-0,173	-0,380**
		p	0,925	0,131	0,0,42
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами		r _s	-0,209	-0,283*	-0,055
		p	0,286	0,013	0,776
Лимфоцитарно–тромбоцитарные коагрегаты		r _s	-0,481**	-0,064	-0,178
		p	0,001	0,583	0,355
VCAM-1					
Показатель			Группа 1	Группа 2	Группа 3
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами		r _s	-0,195	-0,282*	-0,284
		p	0,319	0,013	0,136
Лимфоцитарно–тромбоцитарные коагрегаты		r _s	-0,584**	-0,188	-0,222
		p	0,001	0,101	0,248
Показатель		Контрольная группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3
CD40L					
Лимфоцитарно–тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,622**	-0,204	-0,217	-0,002
	p	0.035	0,297	0,058	0,993

Примечание

* – слабая связь

** – умеренная связь

*** – сильная связь

3.4. Показатели иммунотромбоза у больных с COVID-19 в зависимости от степени тяжести

Необходимо отметить, что пациенты со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания обследовались на фоне терапии антикоагулянтами, что сгладило лабораторные и клинические симптомы.

Фибриноген, известный также как фактор свертывания крови I, является наиболее распространенным белковым компонентом системы коагуляции в плазме крови [180]. В нашем исследовании мы использовали два параметра для оценки уровня фибриногена. Первый – это фибриноген по Клаусу, определяемый с использованием избытка тромбина, который позволяет оценить общее количество фибриногена в крови. Второй параметр – фибриноген D, который отражает скорость образования кровяного сгустка (тромба). У этих показателей концентрация была выше в исследуемых группах

по сравнению с группой контроля. Так уровень фибриногена по Клаусу был больше у всех пациентов с COVID-19 в два раза ($p_{к-1}<0,001$; $p_{к-2}<0,001$; $p_{к-3}<0,001$), а концентрация фибриногена D в первой и во второй группах была выше в два раза ($p_{к-1}=0,001$; $p_{к-2}=0,015$), в третьей группе в три раза ($p_{к-3}<0,001$). Разница между группой с тяжелым течением и остальными определена полуторакартной величиной ($p_{1-3}=0,001$; $p_{2-3}=0,018$). Эти результаты свидетельствуют о выраженной активации коагуляционной системы у пациентов с COVID-19 и возможной связи с тяжестью заболевания (табл.11, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 11 – Фибриноген у пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести, гр/л

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	
	к	1	2	3	
Фибриноген по Клаусу	1,951 (1,672; 2,521)	3,513 (3,987; 4,746) $p_{к-1}<0,001$	4,312 (3,871; 5,322) $p_{к-2}<0,001$ $p_{1-2}=0,262$	3,943 (3,384; 4,791) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-3}=0,254$ $p_{2-3}=0,797$	H=28,781 $p<0,001$
Фибриноген D	2,252 (1,981; 2,483)	4,414 (2,913; 6,741) $p_{к-1}=0,001$	4,523 (3,634; 5,043) $p_{к-2}=0,015$ $p_{1-2}=0,966$	6,791 (5,121; 9,204) $p_{к-3}<0,001$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,018$	H=38,954 $p<0,001$

Полученные данные подчеркивают активацию коагуляционного каскада у пациентов с COVID-19 и говорят о влиянии инфекции на уровень свертывающих факторов крови. Уровень фибриногена по Клаусу у пациентов с тяжелым течением положительно сильно коррелировал с количеством лейкоцитарно-тромбоцитарных и нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов. В группе со среднетяжелым течением умеренно сильно с числом тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами. У пациентов с легким течением концентрация фибриногена D имела только

отрицательные сильные связи с количеством лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов и у тяжелых пациентов с тромбоцитарными коагрегатами с провоспалительными моноцитами (табл. 12).

Таблица 12 – Корреляционные связи количества лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов с уровнем фибриногенов в зависимости от степени тяжести

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
Фибриноген по Клаусу				
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r_s	-0,008	0,055	0,573**
	p	0,968	0,666	0,001
Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3
Нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты	r_s	0,055	0,047	0,515**
	p	0,780	0,688	0,004
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r_s	0,090	0,229*	0,413*
	p	0,648	0,045	0,026
Фибриноген D				
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r_s	-0,296	-0,470**	-0,050
	p	0,126	<0,001	0,801
Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r_s	-0,462**	0,030	0,030
	p	0,013	0,770	0,880

Примечание

* – слабая связь

** – умеренная связь

*** – сильная связь

Тканевой активатор плазминогена участвует в катализе превращения плазминогена в плазмин, который является основным ферментом, ответственным за распад тромба. В ходе нашего исследования было установлено, что в группах с легким и среднетяжелым течением уровень тканевого активатора плазминогена был больше, чем в группе контроля в 5,5 ($p_{к-1}<0,001$) и 6 раз выше ($p_{к-2}<0,001$) соответственно. Это свидетельствует об активном процессе фибринолиза и усиленном распаде уже образовавшихся тромбов. Однако в группе с тяжелым течением этот показатель был наименьшим, хотя и оставался выше контрольного ($p_{к-3}=0,001$). Разница между

второй и третьей группами составила 2,2 раза ($p_{1-3}=0,005$), что указывает на истощение тканевого активатора плазминогена в условиях более тяжелого течения заболевания.

В нашем исследовании показатель ингибитора активатора плазминогена 1-го типа у пациентов в группе с легким течением группы был максимальным, превышая контрольные значения в 57,4 раза ($p_{к-2}<0,001$). В первой и третьей группах также была выше концентрация этого показателя в 29,6 раз ($p_{к-1}<0,001$) и 12 раз ($p_{к-3}=0,001$) соответственно. Основной функцией PAI-1 является ограничение фибринолитической активности на месте формирования гемостатической пробки путем ингибирования тканевого активатора плазминогена. Высокая концентрация PAI-1 влияет на активность противосвертывающей системы крови, что, в свою очередь, увеличивает риск тромбообразования. В третьей группе уровень PAI-1 в 2,4 раза ($p_{1-3}=0,004$) ниже по сравнению с первой группой и в 5 раз по сравнению со второй ($p_{2-3}=0,001$), что свидетельствует об истощении данного показателя.

D-димер представляет собой белковую фракцию, образующуюся при распаде фибрина в процессе растворения кровяных сгустков (фибринолиза). Уровень D-димера был больше по сравнению с контрольной группой в первой группе в 2,4 раза ($p_{к-1}<0,001$), во второй в 4,1 раза ($p_{к-2}<0,001$) и в третьей в 3 раза ($p_{к-3}<0,001$), что указывает на развитие гиперкоагуляции. Однако низкая концентрация у пациентов с тяжелым течением по сравнению со среднетяжелым в 1,3 раза ($p_{1-3}=0,033$) свидетельствует не о снижении тромбообразования, а о декомпенсации антикоагулянтной системы (табл. 13, данные представлены в виде Me [25;75]).

Таблица 13 – Уровень показателей фибринолиза у пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания

Параметры	Контрольная группа (n=40)	Группа 1 (n=33)	Группа 2 (n=37)	Группа 3 (n=35)	Критерий Крускал- Уоллиса
		Легкая степень	Средней степени тяжести	Тяжелой степени	

	к	1	2	3	
tPA, пг/мл	1277 (1207; 1416)	7058 (4206; 12070) p_{к-1}<0,001	7789 (6029; 18460) p_{к-2}<0,001 p ₁₋₂ =0,842	3426 (1646; 8162) p_{к-3}=0,001 p₁₋₃=0,005 p ₂₋₃ =0,088	H=34,782, p <0,001
PAI-1, нг/мл	19 (14; 29)	562 (329; 818) p_{к-1}<0,001	1090 (854; 1240) p_{к-2}<0,001 p ₁₋₂ =0,057	231 (100; 656) p_{к-3}<0,001 p₁₋₃=0,004 p₂₋₃=0,001	H=47,563, p <0,001
D-димер, пг/мл	434 (402; 565)	2931 (2472; 3919) p_{к-1}<0,001	5355 (2878; 6879) p_{к-2}<0,001 p ₁₋₂ =0,198	3963 (2896; 6280) p_{к-3}<0,001 p₁₋₃=0,033 p ₂₋₃ =0,898	H=33,984 p <0,001

Это подтверждается уровнем тканевого фактора, который был больше у всех инфицированных пациентов по сравнению с контрольной группой: в первой и во второй группах в 2 раза ($p_{к-1}<0,001$; $p_{к-2}<0,001$), а в третьей в 2,6 раза ($p_{к-3}<0,001$). Основная функция тканевого фактора заключается в иницировании образования тромбина из протромбина, что является важным этапом в процессе тромбообразования (рис. 12).

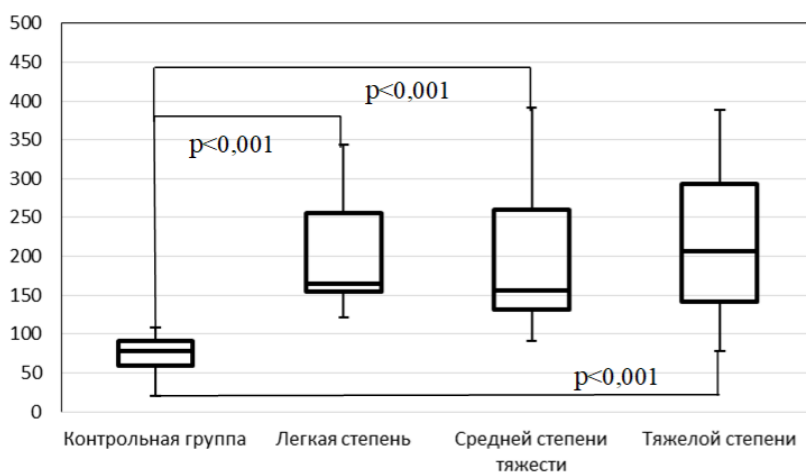


Рисунок 12 – Диаграмма распределения концентрации TF (нг/мл) по группам

Вывод: все исследуемые показатели были выше у пациентов с новой коронавирусной инфекцией независимо от тяжести клинической картины при сравнении с контрольной группой, что свидетельствует об активации свертывающей и противосвертывающей систем крови.

Корреляционные связи уровней показателей тромбообразования и фибринолиза с числом гетероагрегатов представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Корреляционные связи количества лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов с уровнями показателей тромбообразования и фибринолиза у пациентов с COVID-19 различной степени тяжести

Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3	
tPA					
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	0,031	0,260*	0,430**	
	p	0,108	0,020	0,002	
Показатель		Группа 1	Группа 2	Группа 3	
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r _s	0,028	0,310**	0,370**	
	p	0,280	0,010	0,005	
TF					
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,365	-0,300**	-0,310	
	p	0,056	0,010	0,100	
Нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,213	-0,280*	-0,170	
	p	0,275	0,010	0,380	
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r _s	-0,233	-0,260*	-0,550**	
	p	0,233	0,020	<0,001	
Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,041*	0,001	-0,200	
	p	0,029	0,990	0,300	
PAI–1					
Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,550	0,079	0,280*	0,520**
	p	0,670	0,691	0,020	<0,001
Нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,260	-0,048	0,240*	0,380**
	p	0,417	0,809	0,040	0,040
Показатель		Контрольная группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Тромбоцитарные коагрегаты с неклассическими моноцитами	r _s	-0,600**	0,039	-0,200	0
	p	0,043	0,845	0,090	0,990
Тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами	r _s	0,413	0,207	0,270*	0,500**
	p	0,184	0,294	0,020	0,010
Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты	r _s	-0,650**	0,216	-0,070	0,250
	p	0,026	0,270	0,520	0,190

Примечание

* – слабая связь, ** – умеренная связь

*** – сильная связь

Во второй группе пациентов концентрация tPA положительно умеренно коррелировала с числом лейкоцитарных коагратов, в третьей группе связь достигла уровня сильной. Во второй и в третьей группах корреляция с количеством тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами носила одинаковый положительно сильный характер.

У PAI-1 в контрольной группе пациентов выявлена отрицательная сильная корреляционная связь с числом тромбоцитарных коагратов с неклассическими моноцитами и лимфоцитарными коагратами. Во второй и третьей группах корреляционные связи уровня PAI-1 с количеством лейкоцитарных, нейтрофильных и тромбоцитарными коагратами с провоспалительными моноцитарными с положительно умеренных усиливаются до сильных.

В первой группе концентрация TF отрицательно слабо коррелировала с количеством лимфоцитарных коагратов, во второй группе отрицательно сильно с числом лейкоцитарных коагратов и слабо отрицательно с количеством нейтрофильных коагратов и тромбоцитарными коагратами с провоспалительными моноцитарными, в третьей группе корреляционная связь с тромбоцитарными коагратами с провоспалительными моноцитами стала отрицательно сильной.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Очевидно, что полученные результаты свидетельствуют о сложных и нелинейных взаимодействиях исследованных параметров.

Общее количество лейкоцитов у пациентов с COVID-19 в течение наблюдаемого периода находилось в пределах нормы, хотя и было минимальным в первые две недели болезни [11].

Zheng Y. и соавт. (2020) установили, что увеличение числа нейтрофилов, выявленное в первые сутки, является одним из значимых показателей прогрессирования вирусной пневмонии, ассоциированной с COVID-19 [209209]. В нашем исследовании мы выявили, что на второй неделе болезни количество нейтрофилов находилось у нижней границы нормы. Вероятнее всего, это обусловлено парораспределительными механизмами полиморфноядерных клеток.

При COVID-19 нарушается баланс между воспалительными и противовоспалительными реакциями. Компенсация провоспалительных состояний часто происходит чрезмерно, что приводит к подавлению иммунной системы (иммуносупрессия). Это лежит в основе возникновения нарушения функции лимфоцитов, уменьшения их количества в крови [22]. Так же считается, что снижение числа лимфоцитов в начале болезни связано не с токсическим действием вируса на клетки лимфоидного ряда, а с развитием цитокинового шторма; по мере его снижения уменьшается и уровень лимфоцитопении [53]. Полученные нами результаты уточняют имеющиеся данные, так как мы установили, что лимфоцитопения регистрируется у пациентов уже на первой на первой неделе заболевания и сохраняется в течение трех недель.

Мы установили, что в течение первых двух недель болезни количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов у пациентов с COVID-19

находилось на одном уровне и было выше величины контрольной группы более чем в три раза. Это можно объяснить тем, что тромбоциты через основную связь Р-селектин – PSGL-1 – активируют и индуцируют нейтрофилы к высвобождению внеклеточных ловушек. Высвобождение ядерной ДНК, покрытой гистонами и цитоплазматическими ферментами, в кровь и интерстиций уменьшает бактериальную нагрузку на организм. Таким образом иммунная система защищается от микст-инфекции – бактерии+вирусы. Кроме этого, нетоз может привести к каскаду воспалительных реакций, усиливающих вторичную альтерацию окружающих тканей и способствующих микротромбозам, и как следствие – необратимому повреждению легочной, сердечно-сосудистой и почечной систем [139]. По совпадению или в силу причинно-следственной связи эти органы поражаются при тяжелом состоянии болезни COVID-19 [46].

Моноциты и лимфоциты в независимости от срока болезни обнаружены в агрегатах с тромбоцитами гораздо реже, чем в группе контроля. По нашему мнению, это связано с тем, что описанные выше представители лейкоцитарного ряда уходят в ткани для осуществления в первую очередь противовирусной защиты. Указанное подтверждается динамикой МТК в зависимости от срока заболевания, уже на первой и второй неделях болезни их регистрация была практически в 2 и 3 раза ниже, чем в контрольной группе, соответственно. Srihirun S. и соавторы (2023) сообщают о противоположных данных, по материалам их исследования у всех пациентов с COVID-19 независимо от дня заболевания моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты были выше, чем в контрольной группе [129].

Получив вышеописанные результаты, мы решили направить вектор своего исследования на тяжесть течения клинической картины, при этом дату забора материала выбрать в диапазоне конца первой и начала второй недель заболевания.

У пациентов различной степени тяжести количество лейкоцитов находилось в пределах нормы, однако наименьшим число было у пациентов первой группы, то есть у пациентов с легким течением.

Лимфоцитопения выявляется у 80% пациентов с COVID-19 [197] и остается малоизученным фрагментом патогенеза. Была выдвинута гипотеза, что выживание пациентов может быть непосредственно связано со способностями организма к пополнению запасов лимфоцитов, которые уничтожаются вирусом [118]. В последующем было доказано, что SARS-CoV-2 вызывает ремоделирование периферических лимфоцитов, и при тяжелой инфекции возникает более устойчивый гуморальный иммунный ответ [42]. Khalid A.M.A.M. и его коллеги (2022) в своем исследовании выявили лимфопению у пациентов с COVID-19 отделения интенсивной терапии [130]. Мы также определяли лимфоцитопению, но в нашем исследовании она фиксировалась уже у пациентов с легким течением. У пациентов с тяжелым течением она была ниже практически в полтора раза по сравнению с пациентами первой группы, что может служить неблагоприятным маркером утяжеления процесса. Нами обобщено несколько предположений о развивающейся лимфоцитопении на фоне текущей острой инфекции SARS-CoV-2:

- переход лимфоцитов в различные органы-мишени и образование коагратов с тромбоцитами [116];
- экспрессируя рецепторы ACE2 лимфоциты могут быть прямой мишенью вируса SARS-CoV-2 [40,145];
- увеличение уровня воспалительных цитокинов при COVID-19, особенно ИЛ-6, может вызвать цитокинопосредованное разрушение лимфоцитов. Так в специальном исследовании показано, что количество Т-клеток отрицательно коррелировало с концентрацией ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО-α в сыворотке крови, причем у пациентов в период выздоровления наблюдалось снижение концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО-α и восстановление количества Т-клеток [92];

- непосредственное подавление функции костного мозга вирусом [121];
- иммуноопосредованное разрушение лимфоцитов [146146];
- снижение экспрессии генов, участвующих в активации и функционировании Т-клеток, таких как MAP2K7 и SOS1, под воздействием вируса [88].

При анализе числа тромбоцитов только у пациентов третьей группы зафиксирована тромбоцитопения. По мнению Е.Л. Булановой и соавторов (2022) наличие тромбоцитопении повышает риск смерти при инфекции SARS-CoV-2 в 5,5 раза (95% ДИ 2,979 – 10,031) [35].

Классические моноциты проявляют высокую фагоцитарную активность, первыми мигрируют из крови в очаг воспаления, где трансформируются в провоспалительные макрофаги (HIF-1 α -PDK1). Число классических моноцитов было больше от 3 до 2,5 раз у пациентов независимо от степени тяжести. Провоспалительные моноциты способны секретировать в большом количестве провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-1 бета), индуцировать ангиогенез, при патологии повреждать ткани сердца и других органов. Количество данных клеток было минимальным в группе пациентов с тяжелым течением по сравнению с группой контроля, также было в пять раз ниже, чем в группе со среднетяжелым течением. Это связано, на наш взгляд, как со вступлением клеток в коагрегаты, так и с последующей адгезией их на эндотелии, что подтверждается исследованием F. Syed и коллег (2021) о росте молекул адгезии [105].

Вступая во взаимодействия с кровяными пластинками, нейтрофилы усиливают свои функции, и процесс воспаления переходит в гиперэргическую фазу. Loyer C. и соавторы (2022) в своем исследовании предположили, что нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты могут быть маркерами тяжести COVID-19 [128]. У исследуемых нами пациентов в независимости от степени тяжести число НТК было больше от 3,0 до 3,5 раз количества этих коагрегатов у пациентов, входящих в группу контроля. Нашим исследованием мы расширяем исследование Loyer C. и соавторов в части изменения количества

НТК. Мы обнаружили, что их число было больше уже у пациентов с легких течением и оставалось на этом высоком уровне независимо от клинической картины. Мы предлагаем объяснение этому – повышение количества нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов усиливает выброс цитокинов, в частности МРО. Это отражает повышение активации нейтрофилов и усиление защиты, с другой стороны, усиление вторичного повреждения и увеличение зоны воспаления. Большое количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов у инфицированных пациентов может заноситься с током крови в венозное русло легких и создавать условия для формирования турбулентности кровотока, в результате чего ухудшается перфузия и газообмен.

Регистрация коагратов моноцитов с тромбоцитами у больных различной степени тяжести была реже по сравнению с контролем. Число розеток с классическими моноцитами у пациентов с легким течением было меньше, в 1,2 раза оно отличалось между первой и второй группами, а между первой и третьей уже в 1,7 раз. Данный процесс связан, по нашему мнению, с миграцией моноцитов в ткани по мере нарастания антигенной стимуляции. Выходя в легочную ткань, клетки повышают плотность аэрогематического барьера, что приводит к уменьшению проникновения кислорода из альвеол в капилляры. На это указывала слабая положительная корреляционная связь между SpO_2/FiO_2 [45] и числом моноцитарных коагратов ($r=0,299$; $p<0,001$) в группе, где были собраны все пациенты, и смена знака в группе с индексом SpO_2/FiO_2 выше 450. Параллельно выявлена сильная связь SpO_2/FiO_2 с числом классических моноцитарных розеток ($r=0,427$; $p<0,001$) у всех пациентов[22].

Количество тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами отличается от группы контроля, при этом зарегистрированы отличия между группами. Поэтому это может быть использован как один из маркеров тяжести течения COVID-19. Умеренная положительная корреляция между индексом SpO_2/FiO_2 и количеством тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами ($r=0,383$; $p < 0,001$ у всех исследуемых

пациентов и $r=0,319$; $p=0,007$ – в группе с индексом SpO_2/FiO_2 до 369) [22] подтверждает гипотезу.

Учитывая высокую концентрацию молекул адгезии и низкое число МТК с различными фракциями, можно предположить, что моноклеары не только уходят в ткани для выполнения своих иммунных функций, но и становятся плацдармом для формирования тромбов [28].

Запуск лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии характеризуется как физиологическая функция, присущая различным субпопуляциям лимфоцитов и реализуемая посредством адгезивных молекул. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия регулируется цитокинами и индукторами агрегации тромбоцитов. Тромбоциты стимулируют адгезию лимфоцитов к экстрацеллюлярному матриксу в условиях тока жидкости, что позволяет им противостоять силе сдвига, и способствуют миграции лимфоцитов [197197].

Низкое число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, зарегистрированное нами независимо от степени тяжести, можно объяснить, с одной стороны, низким числом лимфоцитов во всех группах обследуемых, с другой – действием противовоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-4, ИЛ-10, а также интерферон γ , которые существенно ингибируют лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию и являются дисбалансом молекул адгезии [178]. Меньшее число по сравнению с группой контроля лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов уже у пациентов с легким течением, по нашим предположениям, может свидетельствовать об их антигенной стимуляции поврежденной легочной тканью и, соответственно, их повышенной миграции, в результате чего снижается эластичность последней, что приводит к увеличению нагрузки на дыхательные мышцы, а, следовательно, к развитию гипоксии. Что подтверждается наличием положительной корреляционной связи между числом этих розеток и индексом SpO_2/FiO_2 ($r=0,311$; $p<0,001$) [6].

Вклад лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов в процесс воспаления характеризуется и обнаруженными нами корреляционными

связями. Число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагребатов отрицательно коррелировало с уровнями С – реактивного белка ($r = -0,237$; $p = 0,010$); температурой тела ($r = -0,263$; $p = 0,004$); ЧДД ($r = -0,326$; $p < 0,001$) [28].

В ранних сообщениях из Китая сразу же указывалось на повышенные значения ИЛ-6 у пациентов с COVID-19. Chen N. и его коллеги (2020) в популяции, состоящей в основном из пациентов, не находящихся в отделении интенсивной терапии, выявили среднее значение ИЛ-6 на уровне 7,9 пг/мл (нормальный диапазон 0 – 7 пг/мл), при этом у 52% пациентов значения превышали верхнюю границу нормы [103]. Wu C. и его коллеги (2020) в смешанной популяции пациентов подтвердили этот вывод: у 49% пациентов уровень ИЛ-6 превышал верхнюю границу нормы; кроме того, уровень ИЛ-6 был значительно выше у пациентов с явным ОРЗ ($P = 0,03$) и у тех, кто не выжил ($p = 0,03$) [189]. Ranucci и его коллеги (2020) смогли выявить связь между воспалением и коагуляцией у пациентов с ОРДС при COVID-19, продемонстрировав связь между значениями ИЛ-6 и уровнем фибриногена у серии из 16 пациентов отделения интенсивной терапии [76]. В нашем исследовании концентрация ИЛ-1 β и ИЛ-6 была выше у пациентов независимо от тяжести клинической картины от 5 до 8 раз. При этом, как показал анализ корреляционных связей, концентрация интерлейкинов не имела корреляций в группе контроля, у пациентов с легким течением появляются положительные умеренные корреляции между их уровнем и количеством лейкоцитарных, моноцитарных и тромбоцитарных коагребатов с классическими моноцитарными. У концентрации ИЛ-1 β также выявлена подобная связь с числом ЛТК. В группе со среднетяжелым течением предыдущие связи не сохраняются, но появляется аналогичная по силе связь с количеством тромбоцитарных коагребатов с провоспалительными моноцитами.

Уровень молекул адгезии, таких как Р-селектин и его лиганд 1, а также sCD40L, был больше у пациентов всех групп, чем в группе контроля.

Abdul Qader (2023) и его коллеги в легких случаях COVID-19 получили увеличение уровня молекул адгезии ICAM-1 более чем в четыре раза по

сравнению с нормальным диапазоном, при этом при прогрессировании COVID-19 их количество резко увеличивалось ($p = <0,001$) [39]. Исследуя этот же показатель, мы отметили, что их концентрация как при сравнении с группой контроля, так и при межгрупповом сравнении была меньше. Учитывая, что у здоровых лиц на эндотелии ICAM-1 практически не выявляются, повышение экспрессии связано с повреждением эндотелия свободными радикалами, компонентами комплемента, оксидом азота, липополисахаридами, провоспалительными цитокинами (интерлейкины 1, 6 и 8, фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ и пр.), лейкотриенами, гистамином, тромбином и многими другими медиаторами воспаления [231]. Высокий титр молекул адгезии в нашем исследовании у контрольной группы обусловлен, вероятно, повреждением эндотелия, вызванного фоновыми заболеваниями.

Abdul Qader (2023) также указывает на значительный рост уровня VCAM-1 ($p = 0,002$) у реанимационных пациентов, но его повышение было медленнее, чем повышение ICAM-1 [39]. Мы определили, что уровень молекул VCAM-1 у пациентов третьей группы был выше, чем в контрольной.

Hamzeh-Cognasse H. и его коллеги (2021) определили, что концентрация sCD40L в плазме крови пациентов с COVID-19 была больше, чем в образцах плазмы выздоравливающих пациентов [170]. Знания о высоком уровне этих молекул уже у пациентов с легким течением COVID-19 по сравнению с группой контроля в нашем исследовании расширяет исследование Hamzeh-Cognasse H. и его коллег, так как мы предлагаем иное объяснение данному явлению. Активизируясь при вступлении во взаимодействия, тромбоцит становится на «путь» гиперсекреции, который приводит к эндотелиальной дисфункции, опосредованной секретируемыми биологически активными веществами.

В группе контроля выявлена положительная сильная корреляционная связь между числом ЛпТК и уровнем молекул sCD40L. В группе с легким течением описанная ранее связь не сохраняется, но появляются отрицательные

корреляционные связи с концентрацией других молекул – ICAM-1 и VCAM-1. У пациентов средней степени тяжести уровень данных молекул коррелирует уже слабо отрицательно с количеством тромбоцитарных коагратов с провоспалительными моноцитами. У реанимационных пациентов с COVID-19 концентрация P-selectin положительно умеренно коррелирует с количеством гетероагратов с неклассическими и провоспалительными моноцитами. Концентрация его лиганда умеренно слабо коррелировала с числом тромбоцитарных коагратов с неклассическими моноцитами. Концентрация молекул межклеточной адгезии 1 проявляет отрицательную умеренную корреляционную связь с количеством ЛТК.

При тяжелом течении инфекции описывают несколько патогенетических механизмов нарушения свертывающей системы крови. В первую очередь, следует учитывать, что SARS-CoV-2 тропен к респираторному эпителию через АПФ II [16, 83]. Проникая в организм, он повреждает эндотелий дыхательного тракта, что, в свою очередь, приводит к ангиопатии, активации и агрегации тромбоцитов, в итоге к формированию тромбов [98]. Во вторую, процесс воспаления легочной ткани, развивающийся в ответ на внедрение вируса, способствует через развитие артериальной и венозной гиперемии замедлению кровотока, стаза и формированию тромбов. В третью, учитывая высокое количество у тяжелых пациентов артериальных тромбозов, не исключается вклад в процесс гиперкоагуляции антифосфолипидных антител [3].

Большой уровень TF у всех больных по сравнению с группой контроля не вызывает удивления. Известно, что основным источником TF при COVID-19 является эндотелий, который повреждается как непосредственно вирусом SARS-CoV-2, так и вторичными механизмами: иммобилизация через Fc-рецептор иммунных комплексов на эндотелиоцитах, активация системы комплемента, миграция провоспалительных клеток [25]. Другим источником TF при цитокиновом шторме являются моноциты и макрофаги [222]. Тканевой фактор, с одной стороны, экспрессируется на поверхности названных клеток,

с другой – находится в растворимой форме в биологических жидкостях и, наконец, концентрируется в микровезикулах, циркулирующих в кровотоке. Все сказанное приводит к быстрому формированию внешней теназы, активации X фактора, образованию протромбиназы, генерации тромбина и фибринообразованию. Следует указывать, что тромбы образуются как *in situ* в легочной ткани, так и в основном в венозном кровотоке с последующей эмболизацией сосудов малого круга и ожидаемому снижению перфузии легких. Названные сдвиги сопровождаются «протеазным взрывом» и вторичным выбросом TF из поврежденных эндотелиоцитов и форменных элементов крови. Таким образом, формируется «порочный круг», конечным исходом которого является фатальное снижение перфузии легких. Моноциты при активации различными индукторами демонстрируют так называемый «эффект отдачи», то есть экспрессируют и секретируют TF [24].

Циркулирующие в плазме крови тромбоциты влияют на дифференцировку моноцитов в тканеспецифические макрофаги и дендритные клетки, например, тромбоциты пролонгируют созревание моноцитов в антигенпрезентирующие дендритные клетки [115]. Кроме этого, Hottz E. и коллеги (2020) сообщают, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 моноциты, вступившие во взаимосвязь с тромбоцитами, активнее экспрессируют TF, основной триггер внутрисосудистого свертывания и тромбоза, чем отдельные моноциты в тех же образцах [166].

В группе с легким течением выявлена умеренная отрицательная корреляционная связь между концентрацией TF и числом ЛиТК. У пациентов со среднетяжелым течением слабая отрицательная связь с количеством НТК, пМТК, а сильная отрицательная с числом ЛТК. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 усиливается отрицательная связь с количеством пМТК [27].

У всех инфицированных пациентов концентрация была выше tРА и РАІ-1, чем в группе контроля. Однако в третьей группе эти показатели были ниже, чем в двух предыдущих, что характеризует срыв системы фибринолиза. В

условиях воспаления экспрессия и секреция PAI-1 могут активироваться ангиотензином-II, факторами роста, ИЛ-1, ФНО α [212]. При активации и агрегации тромбоцитов PAI-1 выделяется и связывается с фибрином, что сопровождается снижением скорости лизиса фибрина и тромбозами. Наконец, во всех обследуемых группах концентрация D-димера выше, чем в контрольной группе, а также выявлена достоверная разница между первой и третьей группами. Это свидетельствует о перманентном тромбообразовании и тромболизисе. Подобная коагулограмма описывается в литературе как «тромбоз при иммунном воспалении» [36] или сегодня – «иммунотромбоз» [1].

Уровень фибриногена по Клаусу был выше у всех пациентов с COVID-19, независимо от клинической картины, чем у пациентов контрольной группы. Концентрация фибриноген D тоже была больше при том же сравнении, однако учитывая достоверную разницу между всеми группами, повышение этого показателя может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе течения COVID-19.

В нашем исследовании наличие корреляционной связи между числом ЛТК, НТК, пМТК и концентрациями tPA, PAI-1 и фибриногеном по Клаусу свидетельствует о том, что коагрегаты участвуют не только в коагуляции, но и в активации и ингибции фибринолиза.

При этом мы не исключаем и другие альтернативные пути свертывания крови при COVID-19, в первую очередь, связанные с шиповидным белком S вируса. Этот белок способен активировать сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, о чем свидетельствует увеличение концентрации фактора Виллебранда более чем в 5 раз. Белок S способен активировать переход фибриногена в фибрин без участия тромбина, а также снижать содержание естественных антикоагулянтов, таких как антитромбин-III, альфа-2 макроглобулин, и инициировать контактную фазу свертывания крови [15]. Более того, имеется прямое указание на то, что папаиноподобная протеаза белка S резко инактивирует антикоагулянтную систему: тромбомодулин –

протеин С [12]. Белок S вовлекает в активацию систему комплемента с генерацией мембраноактующего комплекса и последующим лизисом эндотелия, и выбросом тканевого фактора. Параллельно активируется РААС и образованный ангиотензин-11 вызывает экспрессию тканевого фактора на эндотелии, альвеолоцитах, моноцитах, макрофагах. Тем самым замыкаются новые «порочные круги» иммунотромбоза (рис. 13).

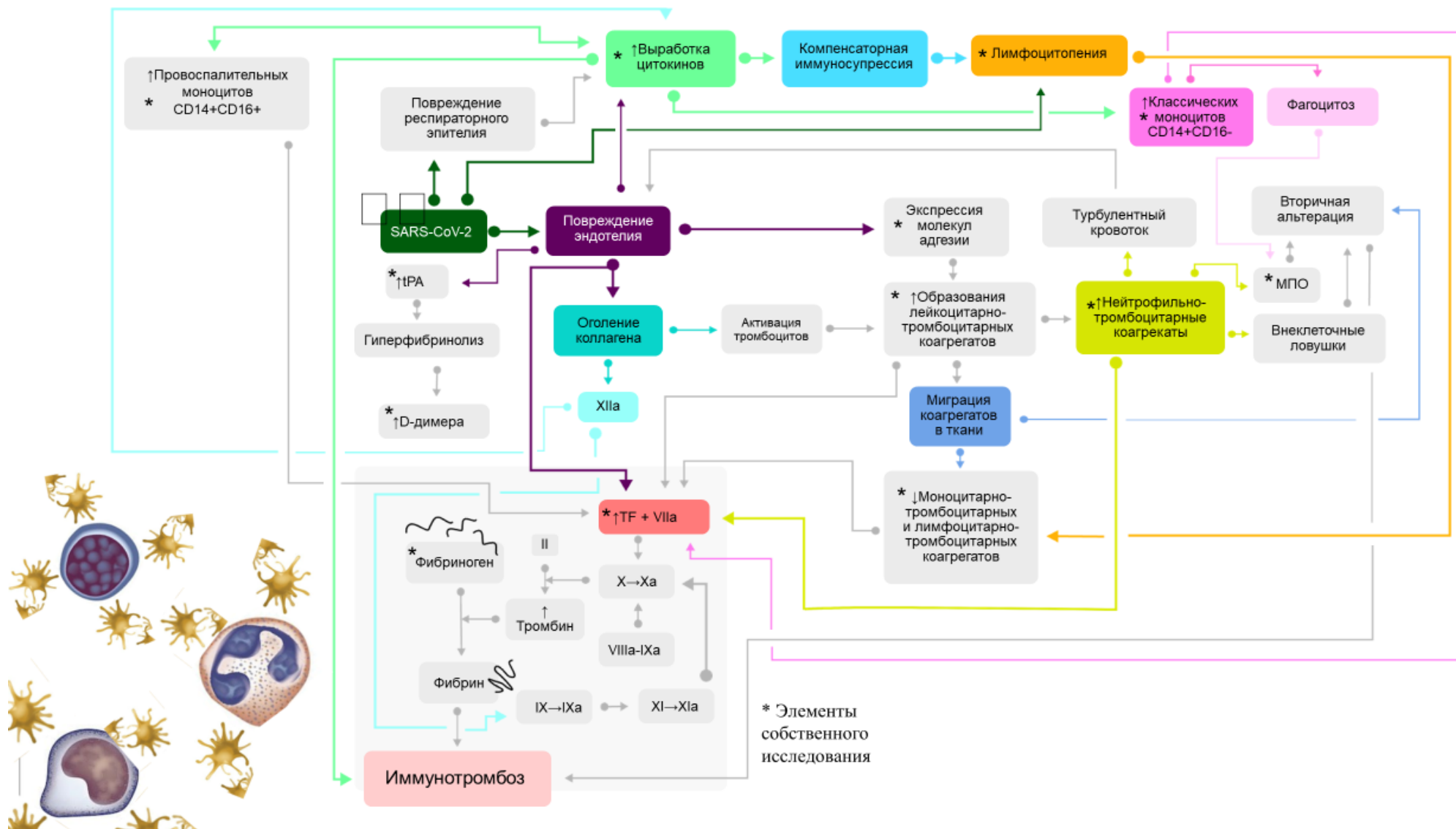


Рисунок 13 – Механизмы иммунотромбоза при COVID-19, реализуемые лейкоцитарно-тромбоцитарными коагрегатами

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изученные клетки периферической крови и лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты играют ключевую роль в развитии иммунотромбоза у пациентов с COVID-19. Гиперкоагуляция приводит к образованию микротромбов в легочных сосудах, что затрудняет газообмен и усугубляет дыхательную недостаточность. Повреждение сосудистой стенки, способствует воспалению и повышенной проницаемости сосудов, что приводит к отеку, уменьшению просвета сосудов и снижению скорости кровотока. Повреждение альвеолярных структур способствует выбросу БАВ. В совокупности эти механизмы оказывают значительное влияние как на врожденный, так и на адаптивный иммунный ответ, усугубляя патологическое состояние и осложняя процесс выздоровления.

Нейтрофилы и нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты вносят вклад в нарушение микроциркуляции. Моноциты и моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты способствуют развитию гиперкоагуляции. Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты участвуют в процессе воспаления и повреждения эндотелия. Нарушение нормального кровоснабжения тканей всего организма, а легочной ткани в особенности, усугубляет гипоксию и гиперкапнию.

При повреждении вирусом SARS-CoV-2 клеток респираторного эпителия, альвеолоцитов I порядка, эндотелиоцитов и др. активируется врожденное и адаптивное звено иммунного ответа [72]. В результате чего образуются лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты. В нашем исследовании мы изучали нейтрофильно-тромбоцитарные, лимфоцитарно-тромбоцитарные и моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты. Среди моноцитарных коагрегатов изучали розетки с провоспалительными, неклассическими и классическими моноцитами. Образование коагрегатов ведет к повышению вязкости крови и ее турбулентному течению. Нейтрофильно-тромбоцитарные розетки участвуют в развитии иммунотромбоза двумя путями: через образование ловушек (нетоз), что приводит к гиперкоагуляции; а также через процесс фагоцитоза, который

сопровождается выделением активных форм кислорода, протеаз и др. приводя к вторичной альтерации и утолщению альвеолярно-капиллярной мембраны. Лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты способствуют повышению экспрессии молекул адгезии, увеличивая адгезию тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию. Вступая в коагрегаты, клетки активируются и начинают секрецию различных БАВ, которые могут повреждать эндотелий, что сопровождается повышением проницаемости сосудистой стенки и вязкости крови. Моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты секретируют TF и снижают фибринолиз, что в конечном итоге приводит к гиперкоагуляции. Образование большого количества тромбов нарушает нормальный кровоток.

ВЫВОДЫ

1. При COVID-19 в крови отмечается низкое количество моноцитарно-тромбоцитарных (420 в 1 мкл против 742 группы контроля, $p<0,001$) и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов (91,2 коагратов в 1 мкл против 238, $p=0,001$), высокое число нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов (1453 гетероагратов и 478 соответственно, $p<0,001$) к 8 дню заболевания.

2. Независимо от степени тяжести заболевания в крови число коагратов было ниже с моноцитами в 2 раза ($p<0,001$), с лимфоцитами – в 3 раза ($p=0,002$); количество нейтрофильных гетероагратов было выше относительно группы контроля в 3 раза ($p=0,001$). У больных с тяжелой степенью COVID-19 присоединяются тромбоцитопения и низкий уровень провоспалительных моноцитов.

3. Концентрация в крови ИЛ-1 β и ИЛ-6 более 4 раз ($p<0,001$), P-sel и PSGL-1 в 2 раза ($p<0,001$), sCD40L в 100 раз ($p<0,001$), VCAM-1 в 1,6 раза ($p=0,025$) была выше, а уровень ICAM-1 ниже у исследуемых пациентов по сравнению с группой контроля, а также относительно пациентов при нетяжелом (в 14,5 раза, $p<0,001$) и тяжелом течении инфекции (в 2 раза, $p<0,001$). У больных COVID-19 легкой и средней степени тяжести выявлены сильные корреляционные связи между концентрацией ИЛ-1 β , ИЛ-6 и числом лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов.

4. У больных при COVID-19 в крови содержание фибриногена, тканевого фактора в 2 раза ($p<0,001$), тканевого активатора плазминогена в 6 раз ($p<0,001$), ингибитора активатора плазминогена-1 в 57,4 раза ($p<0,001$), D-димера в 3 раза ($p<0,001$) были выше относительно контроля, свидетельствуя о наличии коагулопатии во всех группах пациентов. Обнаружены корреляционные взаимосвязи между уровнями показателей гемостаза, фибринолиза и числом лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов в группах со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19.

5. Тромботические осложнения при COVID-19 связаны с образованием нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов, но не лимфоцитарно-тромбоцитарных и моноцитарно-тромбоцитарных коагратов. Это предполагает патогенетическое значение нейтрофильно-тромбоцитарных коагратов в развитии имунотромбоза при COVID-19.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективой дальнейшей разработки темы является изучение роли различных подтипов лимфоцитов и их коагратов с тромбоцитами в развитии патогенеза COVID-19.

Модель COVID-19 может быть использована для изучения таких патологических процессов как воспаление, коагулопатия, эндотелиальная дисфункция, так как вирус проникая в организм вызывает воспалительную реакцию и повреждает эндотелий, которые запускают каскад коагуляции. Благодаря более глубокому пониманию развития этих механизмов можно будет попытаться найти пути для профилактики и лечения венозной тромбоэмболии.

В настоящее время нет данных о скорости образования коагратов, силе и длительности их связей, о возможности выхода из взаимодействия. Эти направления могут быть использованы для дальнейшего изучения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АПФ II: ангиотензинпревращающий фермент II
- АЧТВ: активированное частичное тромбопластиновое время
- АДФ: аденозиндифосфат
- АФК: активные формы кислорода
- БАВ: биологически активные вещества
- ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИАПФ II: изоформа ангиотензинпревращающего фермента II
- ИЛ: интерлейкин
- ЛТК: лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты
- ЛиТК: лимфоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты
- Me: медиана
- МНО: международное нормализованное отношение
- МТК: моноцитарно-тромбоцитарные коагрегаты
- нМТК: тромбоцитарные коагрегаты с неклассическими моноцитами
- кМТК: тромбоцитарные коагрегаты с классическими моноцитами
- пМТК: тромбоцитарные коагрегаты с провоспалительными моноцитами
- НАДФ: никотинамидадениндинуклеотидфосфатгидрогеназа
- НТК: нейтрофильно-тромбоцитарные коагрегаты
- ОРДС: острый респираторный дистресс-синдром
- ПМЯЛ: полиморфноядерные лейкоциты
- РААС: ренин-ангиотензин-альдостероновая система
- РАН: российская академия наук
- СРБ: С-реактивный белок
- ФНО α : фактор некроза опухолей α
- CD: cluster of differentiation antigens, антиген
- COVID-19: coronavirus disease 2019, коронавирусная инфекция 2019 года
- HIF: hypoxia-inducible factors, факторы, вызывающие гипоксию
- HLA-DR: human leucocyte antigens, сублокус DR, антиген второго класса гистосовместимости

ICAM-1: intracellular adhesion molecule-1, молекула клеточной адгезии-1

IFN- γ : immune interferon- γ , интерферон- γ

Ig: иммуноглобулин

NK: natural killer, натуральные киллеры

PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, ингибитор активатора плазминогена - 1

P-sel: P-селектин

PSGL-1: glycoprotein ligand of P-selectin 1, гликопротеиновый лиганд P-селектина 1

PAF: platelet-activating factor, фактор активации тромбоцитов

SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2

TF (ТФ): tissue factor, тканевой фактор

TFPI: tissue factor pathway inhibitor, ингибитор тканевого фактора

TLR4: toll-like receptor 4, Toll-подобный рецептор 4

TMPRSS-2: transmembrane protease, serine 2; трансмембранная протеаза серин-2

tPA: tissue plasminogen activator, тканевой активатор плазминогена

Th: helper T cells, Т-лимфоциты хелперы.

SpO₂: blood oxygen saturation, процентное содержание в крови гемоглобина, насыщенного кислородом

FiO₂: fraction of inspired oxygen, молярная или объёмная доля кислорода во вдыхаемом газе

VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1, молекула адгезии сосудистого эндотелия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активация тромбоцитов и механизмы формирования тромбоэмболий у больных с тяжелым течением COVID-19. Альтернативные механизмы деятельности системы гемостаза / Б.И. Кузник, Ю.Н. Смоляков, Н.Н. Цыбиков [и др.] // Успехи современной биологии. – 2023. – Т. 143, № 4. – С. 335–358.
2. Александрова Н.П. Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни (COVID-19) / Н.П. Александрова. – DOI 10.33910/2687-1270-2020-1-4-285-293 // Интегративная физиология. – 2020. – Т. 1, № 4. – С. 285–293.
3. Анаев Э.Х. Коагулопатия при COVID-19: фокус на антикоагулянтную терапию / Э.Х. Анаев, Н.П. Княжеская // Практическая пульмонология. – 2020. – № 3. – С. 3–13.
4. Беляков Е.С. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия / Е.С. Беляков, Е.Ю. Меленичук // Молодой ученый. – 2019. – № 29 (267). – С. 26–27.
5. Березовская Т.С. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у детей при инфекционных заболеваниях нервной системы / Т.С. Березовская, Н.А. Мироманова, А.М. Мироманов // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2018. – № 1. – С. 105–109. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_32779373_94700143.pdf (дата обращения: 07.07.2023).
6. Бурдиенко Т.О. Патогенез дыхательной недостаточности при COVID-19, обусловленный коагулопатией и эндотелиальной дисфункцией / Т.О. Бурдиенко. – DOI 10.29413/ABS.2024-9.4.9 // Acta Biomedica Scientifica. – 2024. – Т. 9, № 4. – С. 75-82.
7. Витковский Ю.А. Модуляция лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия интерлейкином -2 / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Цитомедины, цитокины и антигены главного комплекса

гистосовместимости : сборник научных трудов. Выпуск 2. – Чита : Поиск, 1999. – С. 32–34.

8. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 5-6. – С. 745–753.

9. Власова Т.И. Дисфункция эндотелия как типовое патологическое состояние / Власова Т.И., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – Т. 21, № 2 (82). – С. 4-15.

10. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7 (03.06.2020). – URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/050/584/original/03062020_MR_COVID-19_v7.pdf (дата обращения: 25.01.2022).

11. Динамика тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов у пациентов с коронавирусной инфекцией в зависимости от дня и степени тяжести заболевания / Т.О. Бурдиенко, Е.В. Фефелова, К.Г. Шаповалов [и др.]. – DOI 10.14427/jirai.2023.4.34 // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2023. – № 4. – С. 34–41.

12. Значение исследования многофункциональной системы протеина С при лечении больных непрямыми антикоагулянтами (обзор литературы) / В.В. Егорова, А.А. Звягин, В.С. Демидова, И.В. Борисов // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костючёнка. – 2022. – Т. 9, № 1. – С. 12–19.

13. Изучение возрастных особенностей лабораторно-инструментальных показателей при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Власова Т.И., Безбородова А.П., Седова Д.Г. [и др.] // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2023. – Т 65, №1. – С. 117-129.

14. Изучение содержания Р-, Е-селектинов и гликопротеинового лиганда PSGL-1 у пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей /

Н.В. Короткова, Р.Е. Калинин, И.А. Сучков [и др.]. – DOI 10.29296/24999490-2022-02-06 // Молекулярная медицина. – 2022. – Т. 20, № 2. – С. 39–45.

15. Карасов И.А. Роль белков S-100 в атерогенезе: обзор / И.А. Карасов, В.В. Кузнецова, Ю.А. Колесникова // Международный студенческий научный вестник. – 2019. – № 6. – С. 28–32.

16. COVID-19 в когорте пациентов с артериальной гипертензией: роль рецепторов ангиотензинпревращающего фермента / Е.П. Антипова, М.В. Моисеева, Н.В. Багишева [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2023. – № 1. – С. 104–112. – URL: <https://www.zabmedvestnik.ru/jour/article/view/130> (дата обращения: 07.07.2023).

17. Кокаева И.О. Эндотелиальная дисфункция у больных COVID-19 – ключевой механизм развития осложнений / И.О. Кокаева, Ю.В. Жернакова, Н.В. Блинова. – DOI 10.38109/2075-082X-2022-4-37-44 // Системные гипертензии. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 37–44.

18. Кузник Б.И. COVID-19: Влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции / Б.И. Кузник, К.Г. Шаповалов, Н.И. Чалисова // Успехи современной биологии. – 2023. – Т. 143, № 1. – С. 38–51.

19. Кузник Б.И. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма / Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбилов, Ю.А. Витковский // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 2. – С. 3–16.

20. Кузник Б.И. Изменения состояния жизненно важных систем организма при LONG-COVID-19 / Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон, Н.С. Линькова. – DOI [10.31857/S0301179820040037](https://doi.org/10.31857/S0301179820040037) // Успехи физиологических наук. – 2020. – Т. 51, № 4. – С. 51–63.

21. Кузник Б.И. Особенности патогенеза и течения COVID-19 у лиц пожилого и старческого возраста / Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон, В.С. Смирнов // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33, № 6. – С. 1032–1042.

22. Лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты в патогенезе дыхательной недостаточности у пациентов с COVID-19 с различной степенью

кислородной поддержки / Т.О. Бурдиенко, Е.В. Фефелова, К.Г. Шаповалов [и др.]. – DOI 10.36604/1998-5029-2024-92-47-53 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2024. – Вып. 92. – С. 47-53

23. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) / Т.В. Степанова, А.Н. Иванов, Н.Е. Терешкина [и др.]. – DOI 10.18821/0869-2084-2019-64-34-41 // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 34–41.

24. Оценка некоторых показателей системы гемостаза в смывах полости носа при различных формах хронических риносинуситов / М.О. Иванов, Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, № 4. – С. 624–627.

25. Полипотентные механизмы регуляции системы гемостаза и тромбообразования при COVID-19 / Б.И. Кузник, Е.В. Ройтман, Н.Н. Цыбиков [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2023. – № 2. – С. 67–89.

26. Респираторная поддержка у пациентов с пневмонией в условиях пандемии COVID-19 / В.К. 1, М.М. Мирсалиев, Г.К. Айткожин, А.А. Ермекбай // Вестник КазНМУ. – 2020. – № 4. – С. 40–44.

27. Роль лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов в патогенезе коагулопатии у пациентов с COVID-19 / Т.О. Бурдиенко, Т.В. Гайдукова, Е.В. Фефелова [и др.]. – DOI 10.35177/1994-5191-2024-2-3 // Дальневосточный медицинский журнал. – 2024. – № 2. – С. 17-22.

28. Роль лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов в патогенезе эндотелиальной дисфункции у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 / Т.О. Бурдиенко, Е.В. Фефелова, К.Г. Шаповалов [и др.]. – DOI 10.25557/2310-0435.2024.01.41-48 // Патогенез. – 2024. – Т. 22, № 1. – С. 41–48.

29. Роль тромбоцитарно-моноцитарных комплексов периферической крови в репродуктивных процессах и методы их исследования / А.В. Селютин, С.В. Чепанов, О.В. Павлов [и др.]. – DOI 10.18565/aig.2021.8.50-58 // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 8. – С. 50–58.

30. Романов Ю.А. SARS-CoV-2, COVID-19 и сердечно-сосудистые осложнения: взгляд с позиции сосудистого эндотелия/ Ю.А. Романов// Кардиологический вестник. –2022. – Т.17, № 1. – С. 21-28.

31. Содержание растворимой формы Р-селектина, PSGL-1 и тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов у здоровых детей разного возраста / Е.Н. Богомякова, А.В. Солпов, П.П. Терешков [и др.]. – DOI 10.52485/19986173_2023_2_26 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2023. – № 2. – С. 26–38. – URL: <https://www.zabmedvestnik.ru/jour/article/view/161> (дата обращения: 13.12.2024).

32. Содержание тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов в периферической крови у здоровых детей / Е.Н. Богомякова, А.В. Солпов, П.П. Терешков [и др.]. – DOI 10.33029/0206-4952-2022-43-6-702-713 // Иммунология. – 2022. – Т. 43, № 6. – С. 702–713.

33. Тромботический шторм, нарушения гемостаза и тромбовоспаление в условиях COVID-19 / А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе [и др.]. – DOI 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.247 // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т. 15, № 5. – С. 499–514.

34. Тромбоцитарно-лейкоцитарные взаимодействия: иммунорегуляторная роль и патофизиологическое значение / О.В. Павлов, С.В. Чепанов, А.В. Селютин [и др.]. – DOI 10.15789/1563-0625-PLI2511 // Медицинская иммунология. – 2022. – Т. 24, № 5. – С. 871–888.

35. Тромбоцитопении в ОРИТ до и во время пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19: ретроспективное сравнительное когортное исследование / Е.Л. Буланова, С.Е. Работинский, П.А. Дегтярев [и др.]. – DOI 10.21320/1818-474X-2022-4-66-73 // Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. – 2022. – № 4. – С. 66–73.

36. Трухан Д.И. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) и заболевания / патологические состояния органов дыхания / Д.И. Трухан. – DOI

10.21518/2079-701X-2022-16-18-154-161 // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 18. – С. 154–161.

37. Эндотелиальная дисфункция тромботические события у больных с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Лебедева А.А., Куликов А.Н., Власов Т.Д. [и др.] // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2021. – Т. 28, № 4. – С. 38-47.

38. A novel diagnostic and prognostic score for abdominal aortic aneurysms based on D-dimer and a comprehensive analysis of myeloid cell parameters / B. Zagraban, W. Eilenberg, S. Prausmueller [et al.] // Thrombosis and Haemostasis. – 2019. – Vol. 119. – P. 807–820.

39. Abdul Q.W.M. Study of adhesion molecules (ICAM-1 and VCAM-1) effects on immunothrombosis in severe and critical COVID-19 infection in comparison with mild cases / Q.W.M Abdul, R.H. Hadi, F.M. Jabbar // HIV Nursing. – 2023. – № 1. – P. 414–421.

40. ACE2: The Molecular Doorway to SARS-CoV-2 / M.M. Medina-Enríquez, S. Lopez-León, J.A. Carlos-Escalante [et al.]. – DOI 10.1186/s13578-020-00519-8 // Cell Bioscience. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 1–17.

41. Activated platelets convert CD14⁺CD16[–] into CD14⁺CD16⁺ monocytes with enhanced FcγR-mediated phagocytosis and skewed M2 polarization / S.J. Lee, B.R. Yoon, H.Y. Kim [et. al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2020.611133 // Front Immunol. – 2021. – Vol. 11. – P. 611133.

42. Adaptive immune responses to SARS-CoV-2 infection in severe versus mild individuals / F. Zhang, R. Gan, Z. Zhen [et al.]. – DOI 10.1038/s41392-020-00263-y // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 156.

43. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival / D.M. Valle, S. Kim-Schulze, H.H. Huang. – DOI 10.1038/s41591-020-1051-9 // Nature Medicine. – 2020. – Vol. 26, № 10. – P. 1636–1643.

44. Asakura H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation / H. Asakura, H. Ogawa. – DOI 10.1007/s12185-020-

03029-y // International Journal of Hematology. – 2021. – Vol. 113, № 1. – P. 45–57.

45. Assessment of the SpO₂/FiO₂ ratio as a tool for hypoxemia screening in the emergency department / P. Catoire, E. Tellier, C. de la Rivière [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajem.2021.01.092 // American Journal of Emergency Medicine. – 2021. – Vol. 44. – P. 116–120.

46. Association of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) With Myocardial Injury and Mortality / R.O. Bonow, G.C. Fonarow, P.T. O'Gara, C.W. Yancy // JAMA Cardiology. – 2020. – № 7. – P. 751–753.

47. Badrnya S. Smoking alters circulating plasma microvesicle pattern and microRNA signatures / S. Badrnya, R. Baumgartner, A. Assinger // Thrombosis and Haemostasis. – 2014. – № 112. – P. 128–136.

48. Beyond Hemostasis: Platelet Innate Immune Interactions and Thromboinflammation / J. Mandel, M. Casari, M. Stepanyan [et al.]. – DOI 10.3390/ijms23073868 // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, № 7. – P. 43–52.

49. Bioavailability of alfrutamide and caffedymine and their P-selectin suppression and platelet-leukocyte aggregation mechanisms in mice / J.B. Park. – DOI 10.3945/jn.114.202473 // The Journal of Nutrition. – 2016. – Vol. 146, № 2. – P. 437S–443S.

50. Biomarkers for the prediction of venous thromboembolism in critically ill COVID-19 patients / R.W.G. Dujardin, B.N. Hilderink, W.E. Haksteen [et al.]. – DOI 10.1016/j.thromres.2020.09.017 // Thrombosis Research. – 2020. – Vol. 196. – P. 308–312.

51. Blockade of the Kallikrein-Kinin System Reduces Endothelial Complement Activation in Vascular Inflammation / I. Lopatko Fagerström, A.L. Ståhl, M. Mossberg [et al.]. – DOI 10.1016/j.ebiom.2019.08.020 // EBioMedicine. – 2019. – Vol. 47. – P. 319–328.

52. CD40 stimulation via CD40 ligand enhances adenovirus-mediated tumour immunogenicity including «find-me», «eat-me», and «kill-me» signalling /

S. Naseri, M.M. Cordova, J. Wenthe [et al.] // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2024. – Vol. 7. – e18162.

53. Chan P.K. Mechanisms of lymphocyte loss in SARS coronavirus infection / P.K Chan, G.G. Chen // Journal of emergency and critical care medicine. – 2008. – Vol. 4. – P. 21–26.

54. Channels and endothelial dysfunction in acute lung injury / Y. Hao, Z. Wang, F. Frimpong [et al.]. – DOI 10.3390/cimb44050150 // Current Issues in Molecular Biology. – 2022. – Vol. 44, № 5. – P. 2217–2229.

55. Chen W.A. Neutrophil extracellular DNA traps in response to infection or inflammation, and the roles of platelet interactions / W.A. Chen, D.S. Boskovic // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – № 5. – P. 3025.

56. Circulating platelet-neutrophil complexes represent a subpopulation of activated neutrophils primed for adhesion, phagocytosis and intracellular killing / M.J. Peters, G. Dixon, K.T. Kotowicz [et al.] // British Journal of Haematology. – 1999. – Vol. 106. – P. 391–399.

57. Clinical characteristics and risk factors for symptomatic venous thromboembolism in hospitalized COVID-19 patients: A multicenter retrospective study / J.Y. Li, H.F. Wang, P. Yin [et al.]. – DOI 10.1111/jth.15261 // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2021. – Vol. 19, № 4. – P. 1038–1048.

58. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China / D. Wang, B. Hu, C. Hu [et al.]. – DOI 10.1001/jama.2020.1585 // JAMA. – 2020. – Vol. 323, № 11. – P. 1061–1069.

59. Clinical features of patients infected with 2019 novel Coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 // The Lancet. – 2020. – Vol. 395, № 10223. – P. 497–506.

60. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang [et al.]. – DOI 10.1007/s00134-020-05991-x // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 46, № 5. – P. 846–848.

61. Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019 / Z. Zhu, T. Cai, L. Fan [et al.]. – DOI 10.1016/j.ijid.2020.04.041 // International Journal of Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 95. – P. 332–339.

62. CLK2 Mediates $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ -Independent Early Termination of NF- κB Activation by Inducing Cytoplasmic Redistribution and Degradation / S.Z. Li, Q.P. Shu, H.M. Zhou [et al.]. – DOI 10.1038/s41467-024-48288-z // Nature Communications. – 2024. – Vol. 15, № 1. – P. 1–17.

63. CNP ameliorates macrophage inflammatory response and atherosclerosis // Circulation Research : [website]. – URL: <https://www.ahajournals.org/doi/pdf/10.1161/CIRCRESAHA.123.324086> (date of access: 08.04.2024).

64. Coagulation profile of COVID-19 patients admitted to the ICU: An exploratory study / T.D. Corrêa, R.L. Cordioli, J.C. Campos Guerra [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0243604 // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, № 12. – P. 1–16.

65. Coagulopathy in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / X. Zhang, X. Yang, H. Jiao, X. Liu // Aging. – 2020. – Vol. 12. – P. 24535–24551.

66. Coagulopathy in patients with COVID-19: treatment and care // Sage Journals : [website]. – URL: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/1076029620936776> (date of access: 10.07.2022).

67. Conserved aging-related signatures of senescence and inflammation in different tissues and species / E. Barth, A. Srivastava, M. Stojiljkovic [et al.]. – DOI 10.18632/aging.102345 // Aging (Albany NY). – 2019. – Vol. 11, № 19. – P. 8556–8572.

68. COVID-19 : [official website]. – URL: <https://coronavirus-graph.ru/> (date of the application: 29.10.2024).

69. COVID-19 and respiratory system disorders: Current knowledge, future clinical and translational research questions / S.B. Brosnahan, A.H. Jonkman,

M.C. Kugler [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 2586–2597.

70. COVID-19 as a cardiovascular disease: the potential role of chronic endothelial dysfunction / J.F. Bermejo-Martin, R. Almansa, A. Torres [et al.]. – DOI 10.1093/cvr/cvaa140 // *Cardiovascular Research*. – 2020. – Vol. 116, № 10. – P. e132–e133.

71. COVID-19 does not lead to a «typical» acute respiratory distress syndrome / L. Gattinoni, S. Coppola, M. Cressoni [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2020. – Vol. 10. – P. 1299–1300.

72. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? / L. Gattinoni, D. Chiumello, P. Caironi [et al.]. – DOI 10.1007/s00134-020-06033-2 // *Intensive Care Medicine*. – 2020. – Vol. 46, № 6. – P. 1099–1102.

73. COVID-19: ACE2centric Infective Disease? / P. Verdecchia, C. Cavallini, A. Spanevello, F. Angeli. – DOI 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15353 // *Hypertension*. – 2020. – Vol. 76, № 2. – P. 294–299.

74. COVID-19: coagulopathy, risk of thrombosis, and the rationale for anticoagulation // Sage Journals : [website]. – URL: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/1076029620938149> (date of access: 17.04.2022).

75. COVID-19: the vasculature unleashed / L.A. Teuwen, V. Geldhof, A. Pasut, P. Carmeliet. – DOI 10.1038/s41577-020-0343-0 // *Nature Reviews Immunology*. – 2020. – Vol. 20, № 7. – P. 389–391.

76. Covid-19-associated coagulopathy: biomarkers of thrombin generation and fibrinolysis leading the outcome / M. Ranucci, C. Sitzia, E. Baryshnikova [et al.]. – DOI 10.3390/jcm9113487 // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 1–11.

77. Current position on the role of monomeric C-reactive protein in vascular pathology and atherothrombosis / I.S. Melnikov, S.G. Kozlov, O.S.

Saburova [et al.]. – DOI 10.2174/1381612825666191216144055 // Current Pharmaceutical Design. – 2020. – Vol. 26, № 1. – P. 37–43.

78. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality / C. Zhang, Z. Wu, J.W. Li [et al.]. – DOI 10.1016/j.ijantimicag.2020.105954 // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2020. – Vol. 55, № 5. – P. 105954.

79. De Queiroz T.M. ADAM17-Mediated Shedding of Inflammatory Cytokines in Hypertension / T.M. de Queiroz, N. Lakkappa, E. Lazartigues. – DOI 10.3389/fphar.2020.01154 // Front Pharmacol. – 2020. – Vol. 11. – P. 1154.

80. Devaux C.A. An update on angiotensin-converting enzyme 2 structure/functions, polymorphism, and duplicitous nature in the pathophysiology of coronavirus disease 2019: Implications for vascular and coagulation disease associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection / C.A. Devaux, L. Camoin-Jau. – DOI 10.3389/fmicb.2022.1042200 // Front Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 1042200.

81. Diagnosis and treatment of acute pulmonary inflammation in critically ill patients: The role of inflammatory biomarkers / S. Chalmers, A. Khawaja, P.M. Wieruszewski [et al.]. – DOI 10.5492/wjccm.v8.i5.59 // World Journal of Critical Care Medicine. – 2019. – Vol. 8, № 5. – P. 59–71.

82. Diagnosis, prevention, and treatment of thromboembolic complications in COVID-19: report of the national institute for public health of the netherlands / M. Oudkerk, H.R. Büller, D. Kuijpers [et al.] // Radiology. – 2020. – № 1. – P. E216–E222.

83. Discovery of Protease-activated receptor 4 (PAR4)- tethered ligand antagonists using ultralarge virtual screening / S.T. Smith, J.B. Cassada, L. Von Bredow [et al.]. – DOI 10.1021/acsptsci.3c00378 // ACS Pharmacology & Translational Science. – 2024. – Vol. 7, № 4. – P. 1086–1100.

84. Disease severity in moderate-to-severe COVID-19 is associated with platelet hyperreactivity and innate immune activation // Frontiers : [website]. – URL:

<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.844701/full> (date of access: 22.10.2022).

85. Distinct phenotypes require distinct respiratory management strategies in severe COVID-19 / C. Robba, D. Battaglini, L. Ball [et al.] // *Respiratory Physiology & Neurobiology*. – 2020. – Vol. 279. – P. 1–8.

86. Dolhnikoff M. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19 / M. Dolhnikoff, A.N. Duarte-Neto, R.A. de Almeida Monteiro. – DOI 10.1111/jth.14844 // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 18, № 6. – P. 1517–1519.

87. Down regulated Gene Expression Spectrum and Immune Responses Changed During the Disease Progression in Patients With COVID-19 / Y. Ouyang, J. Yin, W. Wang [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 16. – P. 2052–2060.

88. Early SARS-CoV-2 infection: platelet-neutrophil complexes and platelet function / M. Rieder, N. Baldus, D. Stallmann [et al.] // *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. – 2023. – Vol. 7, № 1. – P. 1–12.

89. Effect of low or high doses of low-molecular-weight heparin on thrombin generation and other haemostasis parameters in critically ill patients with COVID-19 / A. Chistolini, F. Ruberto, F. Alessandri [et al.]. – DOI 10.1111/bjh.17003 // *The British Journal of Haematology*. – 2020. – Vol. 190, № 4. – P. e214–e218.

90. Effects of the circulating environment of COVID-19 on platelet and neutrophil behavior // *Frontiers* : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1130288/full> (date of access: 20.01.2024).

91. EGFR of platelet regulates macrophage activation and bacterial phagocytosis function / S. Luo, R. Xu, P. Xie [et al.]. – DOI 10.1186/s12950-024-00382-1 // *Journal of Inflammation (London)*. – 2024. – Vol. 21, № 1. – P. 1–12.

92. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients / H.Y.

Zheng, M. Zhang, C.X. Yang [et al.]. – DOI 10.1038/s41423-020-0401-3 // Cellular and Molecular Immunology. – 2020. – Vol. 17, № 5. – P. 541–543.

93. Emerging approaches to understanding microvascular endothelial heterogeneity: A roadmap for developing anti-inflammatory therapeutics / Q. Yang, H. Wijerathne, J.C. Langston [et al.]. – DOI 10.3390/ijms22157770 // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, № 15. – P. 7770.

94. Endothelial activation and dysfunction in COVID-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches / Y. Jin, W. Ji, H. Yang [et al.]. – DOI 10.1038/s41392-020-00454-7 // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 1–13.

95. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A.J. Flammer, P. Steiger [et al.] // The Lancet. – 2020. – Vol. 395. – P. 1417–1418.

96. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19 / A. Bonaventura, A. Vecchié, L. Dagna [et al.]. – DOI 10.1038/s41577-021-00536-9 // Nature Reviews Immunology. – 2021. – Vol. 21, № 5. – P. 319–329.

97. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets / A. Janaszak-Jasiecka, A. Płoska, J.M. Wierońska [et al.]. – DOI 10.1186/s11658-023-00423-2 // Cell and Molecular Biology Letters. – 2023. – Vol. 28, № 1. – P. 1–28.

98. Endothelial dysfunction and immunothrombosis in sepsis // Frontiers : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1144229/full>

99. Endothelial injury in COVID-19 and septic patients / L.T. Hokama, A.D.M. Veiga, M.C.S. Menezes [et al.] // Microvascular Research. – 2022. – Vol. 140. – P. 1–5.

100. Endothelial thrombomodulin down regulation caused by hypoxia contributes to severe infiltration and coagulopathy in COVID-19 patient lungs / T.

Won, M.K. Wood, D.M. Hughes [et al.]. – DOI 10.1016/j.ebiom.2022.103812 // eBioMedicine. – 2022. – Vol. 75. – P. 103812.

101. Endovascular drug delivery // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2075-1729/14/4/451> (date of access: 10.05.2024).

102. Engelman B. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity / B. Engelman, S. Massberg. – DOI 10.1038/nri3345 // Nature Reviews Immunology. – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 34–45.

103. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen, M. Zhou, X. Dong [et al.]. – DOI 10.1016/S0140-6736(20)30211-7 // Lancet. – 2020. – Vol. 395, № 10223. – P. 507–513.

104. Evaluation of COVID-19 coagulopathy; laboratory characterization using thrombin generation and nonconventional haemostasis assays / D. White, S. MacDonald, T. Edwards [et al.]. – DOI 10.1111/ijlh.13329 // International Journal of Laboratory Hematology. – 2021. – Vol. 43, № 1. – P. 123–130.

105. Excessive matrix metalloproteinase-1 and hyperactivation of endothelial cells occurred in COVID-19 patients and were associated with the severity of COVID-19 / F. Syed, W. Li, R.F. Relich [et al.]. – DOI 10.1093/infdis/jiab167 // Journal of Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 224, № 1. – P. 60–69.

106. Extracellular vesicles from monocyte/platelet aggregates modulate human atherosclerotic plaque reactivity / S. Oggero, M. de Gaetano, S. Marcone [et al.] // Journal of Extracellular Vesicles. – 2021. – Vol. 6. – P. 1–18.

107. Factors related to serum levels of intercellular adhesion molecule-1 in probable COVID-19 patients in surgical treatment: an observational study / M.H. Oley, M.C. Oley, F.L.F.G. Langi [et al.] // Pan African Medical Journal. – 2023. – Vol. 46. – P. 1–13.

108. Fajgenbaum D.C. Cytokine Storm / D.C. Fajgenbaum, C.H. June. – DOI 10.1056/NEJMra2026131 // The New England Journal of Medicine. – 2020. – Vol. 383, № 23. – P. 2255–2273.

109. Functional consequences of platelet binding to T lymphocytes in inflammation / C. Zamora, E. Cantó, J.C. Nieto [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2013. – Vol. 94. – P. 521–529.
110. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients / M. Zheng, Y. Gao, G. Wang [et al.]. – DOI 10.1038/s41423-020-0402-2 // *Cellular and Molecular Immunology*. – 2020. – Vol. 17, № 5. – P. 533–535.
111. Gasdermin D in pyroptosis / B.E. Burdette, A.N. Esparza, H. Zhu, S. Wang. – DOI 10.1016/j.apsb.2021.02.006 // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. – 2021. – Vol. 11, № 9. – P. 2768-2782.
112. Gibson P.G. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS / P.G. Gibson, L. Qin, S.H. Puah. – DOI 10.5694/mja2.50674 // *Med J Aust*. – 2020. – Vol. 213, № 2. – P. 54–56.e1.
113. Glatzová D. Dual role of CD4 in peripheral T lymphocytes / D. Glatzová, M. Cebecauer // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 618.
114. Green S.J. Covid-19 Accelerates Endothelial Dysfunction and Nitric Oxide Deficiency / S.J. Green. – DOI 10.1016/j.micinf.2020.05.006 // *Microbes and Infection*. – 2020. – Vol. 22, № 4-5. – P. 149–150.
115. Hartz S. Leukocyte apoptosis in whole blood involves platelet-dependent coaggregation / S. Hartz, B. Menart, D. Tschoepe. – DOI 10.1002/cyto.a.10026 // *Cytometry A*. – 2003. – Vol. 52 (2). – P. 117–21.
116. HCG18, LEF1AS1 and lncCEACAM21 as biomarkers of disease severity in the peripheral blood mononuclear cells of COVID-19 patients / S. Greco, A. Made, M. Mutoli [et al.] // *Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 1. – P. 758.
117. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis / B.M. Henry, M.H. S. de Oliveira, S. Benoit [et al.] // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2020. – Vol. 7. – P. 1021–1028.
118. Henry B.M. COVID-19, ECMO, and Lymphopenia: A Word of Caution // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 4. – P. e24.

119. HIV and cardiovascular diseases risk: exploring the interplay between T-cell activation, coagulation, monocyte subsets, and lipid subclass alterations / E. Teer, D.E. Joseph, N. Driescher [et al.]. – DOI 10.1152/ajpheart.00797.2018 // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2019. – Vol. 316, № 5. – P. H1146–H1157.
120. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer / T. Hirano. – DOI 10.1093/intimm/dxaa078 // International Immunology. – 2021. – Vol. 33(3). – P.127-148.
121. Huang I. Lymphopenia in severe Coronavirus disease-2019 (COVID-19): Systematic review and meta-analysis / I. Huang, R. Pranata // Intensive Care Medicine. – 2020. – Vol. 8. – P. 1–10.
122. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases // Frontiers : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.02035/full> (date of access: 10.07.2022).
123. Hypertension, thrombosis, kidney failure, and diabetes: is COVID-19 an endothelial disease? A comprehensive evaluation of clinical and basic evidence // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/5/1417> (date of access: 22.11.2022).
124. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-COV2 associated thrombosis / C. Nougier, R. Benoit, M. Simon [et al.]. – DOI 10.1111/jth.15016 // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18, № 9. – P. 2215–2219.
125. ICAMs in immunity, intercellular adhesion and communication / C. Guerra-Espinosa, M. Jimenez-Fernandez, F. Sanchez-Madrid, J.M. Serrador // Cells. – 2024. – Vol. 4. – P. 339.
126. Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy / L. Nicolai, A. Leunig, S. Brambs [et al.] // Circulation. – 2020. – № 12. – P. 1176–1189.

127. Impaired fibrinolysis in critically ill COVID-19 patients / M. Bachler, J. Bösch, D.P. Stürzel [et al.]. – DOI 10.1016/j.bja.2020.12.010 // *British Journal of Anaesthesia*. – 2021. – T. 126, № 3. – P. 590–598.
128. Impairment of neutrophil functions and homeostasis in COVID-19 patients: association with disease severity / C. Loyer, A. Lapostolle, T. Urbina [et al.] // *Critical Care*. – 2022. – Vol. 26, № 1. – P. 1–16.
129. Increased platelet activation and lower platelet-monocyte aggregates in COVID-19 patients with severe pneumonia / S. Srihirun, T. Sriwantana, S. Srichatrapimuk [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0282785 // *PLoS One*. – 2023. – Vol. 18, № 3. – P. 1–13.
130. Influence of COVID-19 on lymphocyte and platelet parameters among patients admitted to intensive care unit and emergency / A.M.A.M. Khalid, A.M. Suliman, E.I. Abdallah [et al.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2022. – Vol. 26, № 7. – P. 2579–2585.
131. Influence of hypoxia on the epithelial-pathogen interactions in the lung: implications for respiratory disease // *Frontiers* : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.653969/full> (date of access: 04.03.2022).
132. Injury to the endothelial glycocalyx in critically ill patients with COVID-19 / K. Stahl, P.A. Gronski, Y. Kiyan [et al.]. – DOI 10.1164/rccm.202007-2676LE // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2020. – Vol. 202, № 8. – P. 1178–1181.
133. Intelligent classification of platelet aggregates by agonist type / Y. Zhou, A. Yasumoto, C. Lei [et al.]. – DOI 10.7554/eLife.52938 // *Elife*. – 2020. – Vol. 9. – P. 1–15.
134. Interaction of angiotensin II AT1 receptors with purinergic P2X receptors in regulating renal afferent arterioles in angiotensin II-dependent hypertension // *MDPI* : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/14/11413> (date of access: 24.02.2023).

135. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19) // Centers for Disease Control and Prevention : [website]. – URL: <https://www.cdc.gov/covid/index.html> (date of access: 10.11.2021).

136. Intramural needle ablation or repeated standard ablation in patients referred for repeat ablation of scar-related ventricular tachycardia / M. Kurata, U. Batnyam, U.B. Tedrow [et al.] // Journal of Cardiovascular Electrophysiology. – 2024. – Vol. 35, № 5. – P. 994–1004.

137. JAK inhibition as a new treatment strategy for patients with COVID-19 / F. Seif, H. Aazami, M. Khoshmirsafa [et al.]. – DOI 10.1159/000508247 // International Archives of Allergy and Immunology. – 2020. – Vol. 181, № 6. – P. 467–475.

138. Jolugbo P. Thrombus composition and efficacy of thrombolysis and thrombectomy in acute ischemic stroke / P. Jolugbo, R.A.S. Ariens. – DOI 10.1161/STROKEAHA.120.032810 // Stroke. – 2021. – Vol. 52, № 3. – P. 1131–1142.

139. Jorch S.K. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease / S.K. Jorch, P. Kubes. – DOI 10.1038/nm.4294 // Nature Medicine. – 2017. – Vol. 23, № 3. – P. 279–287.

140. King P.T. Neutrophil extracellular traps and respiratory disease / P.T. King, L. Dousha. – DOI 10.3390/jcm13082390 // Journal of Clinical Medicine. – 2024. – Vol. 13, № 8. – P. 2390.

141. Lallo V. Influencing endothelial cells roles in inflammation and wound healing through nucleic acid delivery / V. Lallo, L.G. Bracaglia. – DOI 10.1089/ten.TEA.2023.0296 // Tissue Engineering Part A. – 2024. – Vol. 30, № 7–8. – P. 272–286.

142. Lamers M.M. SARS-CoV-2 pathogenesis / M.M. Lamers, B.L. Haagmans. – DOI 10.1038/s41579-022-00713-0 // Nat Rev Microbiol. – 2022. – Vol. 20, № 5. – P. 270–284.

143. Liberale L. Cytokines as Therapeutic Targets for Cardio- and Cerebrovascular Diseases / L. Liberale, S. Ministrini, F. Carbone [et al.]. – DOI 10.1007/s00395-021-00863-x // *Basic Research in Cardiology*. – 2021. – Vol. 116, № 1. – P. 1–26.
144. Liu Y.C. COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history / Y.C. Liu, R.L. Kuo, S.R. Shih. – DOI 10.1016/j.bj.2020.04.007 // *Biomed Journal*. – 2020. – Vol. 43, № 4. – P. 328-333.
145. Lymphopenia during the COVID-19 infection: What it shows and what can be learned / S. Tavakolpour, T. Rakhshandehroo, E.X. Wei, M. Rashidian. – DOI 10.1016/j.imlet.2020.06.013 // *Immunology Letters*. – 2020. – Vol. 225. – P. 31–32.
146. Mank V. Leukocytosis / V. Mank, K. Brown // In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2022 // NIH : [website]. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK561252/> (date of the application: 29.10.2024).
147. Mc Kernan D.P. Pattern recognition receptors as potential drug targets in inflammatory disorders / Mc D.P. Kernan. – DOI 10.1016/bs.apcsb.2019.09.001 // *Adv Protein Chem Struct Biol*. – 2020. – Vol. 119. – P. 65–109.
148. Measurement of leukocyte-platelet aggregates (LPA) by FACS: a comparative analysis / C. Polasky, M. Wallesch, K. Loyal [et al.] // *Platelets*. – 2021. – Vol. 2. – P. 209–214.
149. Mechanisms of COVID-19 associated pulmonary thrombosis: a narrative Review. // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/3/929> (date of access: 22.09.2023).
150. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis / F. Ciceri, L. Beretta, A.M. Scandroglio. – DOI 10.51893/2020.2.pov2 // *Critical Care and Resuscitation*. – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 95–97.

151. Mitchell W.B. Thromboinflammation in COVID-19 acute lung injury / W.B. Mitchell. – DOI 10.1016/j.prrv.2020.06.004 // Paediatric Respiratory Reviews. – 2020. – Vol. 35. – P. 20–24.

152. Monocyte differentiation and heterogeneity: inter-subset and interindividual differences / H. Williams, C. Mack, R. Baraz [et al.]. – DOI 10.3390/ijms24108757 // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 10. – P. 8757.

153. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo / M.L. von Brühl, K. Stark, A. Steinhart [et al.]. – DOI 10.1084/jem.20112322 // Journal of Experimental Medicine. – 2012. – Vol. 209, № 4. – P. 819–835.

154. Milosevic N. Endothelial cell adhesion molecules- (un)attainable targets for nanomedicines / N. Milosevic, M. Rütter, A. David. – DOI 10.3389/fmedt.2022.846065 // Frontiers in medical technology. – 2022. – Vol. 4. – P. 846065.

155. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome / E.A. Middleton, X.Y. He, F. Denorme [et al.] // Blood. – 2020. – № 10. – P. 1169–1179.

156. Neutrophil-platelet and monocyte-platelet aggregates in COVID-19 patients / A.Le Joncour, L. Biard, M. Vautier [et al.]. – DOI 10.1055/s-0040-1718732 // Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 120, № 12. – P. 1733–1735.

157. Neutrophils develop rapid proinflammatory response after engulfing Hb-activated platelets under intravascular hemolysis / A. Bhasym, G.K. Annarapu, S. Saha [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. – 2019. – Vol. 2. – P. 131–140.

158. NF-κB: At the borders of autoimmunity and inflammation / L. Barnabei, E. Laplantine, W. Mbongo [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2021.716469 // Frontiers in Immunology. – 2021. – № 12. – P. 716469.

159. Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and cytokine storms for more effective treatments from an inflammatory pathophysiology / S. Yokota, T.

Miyamae, Y. Kuroiwa, K. Nishioka. – DOI 10.3390/jcm10040801 // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10, № 4. – P. 801.

160. Novel insights on the role of VCAM-1 and ICAM-1: potential biomarkers for cardiovascular diseases / R. Kaur, V. Singh, P. Kumari [et al.]. – DOI 10.1016/j.amsu.2022.104802 // Annals of Medicine and Surgery (London). – 2022. – Vol. 84. – P. 1–3.

161. Novel mechanisms of thrombo-inflammation during infection: spotlight on neutrophil extracellular trap-mediated platelet activation / M. Colicchia, G. Perrella, P. Gant, J. Rayes. – DOI 10.1016/j.rpth.2023.100116 // Research and Practice in Thrombosis Haemostasis. – 2023. – Vol. 7, № 2. – P. 100116.

162. Nowak K. Adhesion molecules: a way to understand lupus / K. Nowak, O. Gumkowska-Sroka, P. Kotyla // Reumatologia. – 2022. – Vol. 2. – P. 133–141.

163. Patients with myeloproliferative neoplasms harbor high frequencies of CD8 T cell-platelet aggregates associated with T cell suppression / A.M. Carnaz Simões, M.O. Holmström, P. Aehnlich [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2022. – № 13. – P. 866610.

164. Pathophysiological mechanisms of thrombosis in acute and long COVID-19 // Frontiers in Immunology : [website]. – URL: https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.0f897ee8-67c558b9-d1cc4216-74722d776562/https/www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.992384/full

165. PEAR1 polymorphisms as a prognostic factor in hemostasis and cardiovascular diseases / N. Ansari, S. Najafi, S. Shahrabi, N. Saki // Thrombosis and Thrombolysis. – 2021. – № 1. – P. 89–95.

166. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19 / E.D. Hottz, I.G. Azevedo-Quintanilha, L. Palhinha [et al.] // Blood. – 2020. – Vol. 11. – P. 1330–1341.

167. Platelet induced functional alteration of CD4⁺ and CD8⁺ T cells in HNSCC // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7507> (date of access: 06.05.2022).

168. Platelet P-selectin Initiates cross-presentation and dendritic cell differentiation in blood monocytes // Science Advances : [website]. – URL: https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aaz1580?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed (date of access: 10.07.2022).

169. Platelet-derived microparticles and their cargos: the past, present, and future / J. Guo, B. Cui, J. Zheng [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajps.2024.100907 // Asian Journal of Pharmaceutics. – 2024. – Vol. 19, № 2. – P. 1–17.

170. Platelet-derived sCD40L: specific inflammatory marker for early-tage severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection / H. Hamzeh-Cognasse, A. Mansour, F. Reizine [et al.]. – DOI 10.1186/s12985-021-01680-3 // Virology Journal. – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 211.

171. Platelet-leucocyte aggregates as novel biomarkers in cardiovascular diseases / K. Pluta, K. Porębska, T. Urbanowicz [et al.] // Biology. – 2022. – Vol. 2. – P. 224.

172. Platelet-leucocyte interplay during vascular disease / W.C. Schrottmaier, M. Mussbacher, M. Salzmann, A. Assinger. – DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.018 // Atherosclerosis. – 2020. – Vol. 307. – P. 109–120.

173. Platelet-leukocyte interplay in cancer development and progression // Sage Journals : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/4/855> (date of access: 10.07.2022).

174. Platelet-monocyte interaction amplifies thromboinflammation through tissue factor signaling in COVID-19 / E.D. Hottz, R. Martins-Gonçalves, L. Palhinha [et al.] // Blood Advances. – 2022. – Vol. 17. – P. 5085–5099.

175. Platelet-neutrophil crosstalk in thrombosis / L.J. Merewether, A. Constantinescu-Bercu, J.T.B. Crawley, I.I. Salles-Crawley // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – № 2. – P. 1266.

176. Platelets aggregate with neutrophils and promote skin pathology in psoriasis // *Frontiers* : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.01867/full> (date of access: 10.12.2023).

177. Platelets at the crossroads of pro-inflammatory and resolution pathways during inflammation // *MDPI* : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4409/11/12/1957> (date of access: 17.07.20223).

178. Poor H. D. Pulmonary thrombosis and thromboembolism in COVID-19 / H. D. Poor – DOI 10.1016/j.chest.2021.06.016 // *Chest*. – 2021. – Vol. 160. № 4. – P. 1471-1480.

179. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction / T. Menter, J.D. Haslbauer, R. Nienhold [et al.] // *Histopathology*. – 2020. – № 2. – P. 198–209.

180. Prevalence and impact of coagulation dysfunction in COVID-19 in China: a meta-analysis / S. Jin, Y. Jin, B. Xu [et al.]. – DOI 10.1055/s-0040-1714369 // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 120, № 11. – P. 1524–1535.

181. Profile of natural anticoagulant, coagulant factor and anti-phospholipid antibody in critically ill COVID-19 patients / Y. Zhang, W. Cao, W. Jiang [et al.]. – DOI 10.1007/s11239-020-02182-9 // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. – 2020. – Vol. 50, № 3. – P. 580–586.

182. Prognostic Value of C-Reactive Protein in Patients With Coronavirus 2019 / X. Luo, W. Zhou, X. Yan [et al.]. – DOI 10.1093/cid/ciaa641 // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71, № 16. – P. 2174–2179.

183. Protein disulfide isomerase regulation by nitric oxide maintains vascular quiescence and controls thrombus formation / R.H. Bekendam, D. Iyu, F. Passam [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2018. – № 11. – P. 2322–2335.

184. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans / S.E. Fox, A. Akmatbekov, J.L. Harbert. – DOI 10.1016/S2213-2600(20)30243-5 // *Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8, № 7. – P. 681–686.
185. Pulmonary thrombosis or embolism in a large cohort of hospitalized patients with COVID-19 / N. Benito, D. Filella, J. Mateo [et al.] // *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. – 2020. – № 7. – P. 557.
186. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in COVID-19 / M. Ackermann, S.E. Verleden, M. Kuehnel [et al.] // *Journal of Medicine*. – 2020. – № 2. – P. 120–128.
187. Retrospective analyses associate hemostasis activation biomarkers with poor outcomes in patients with COVID-19 / M. Moosavi, M. Wooten, A. Goodman [et al.]. – DOI 10.1093/ajcp/aqaa266 // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2021. – Vol. 155, № 4. – P. 498–505.
188. Risk factors for type 1 and type 2 myocardial infarction / R. Wereski, D. M. Kimenai, A. Bularga [et al.]. – DOI 10.1093/eurheartj/ehab581 // *European Heart Journal*. – 2022. – Vol. 43, № 2. – P. 127-135.
189. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China / C. Wu, X. Chen, Y. Cai [et al.]. – DOI 10.1001/jamainternmed.2020.0994 // *JAMA Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 180, № 7. – P. 934–943.
190. Robateau Z. Acute Respiratory Failure in Severe Acute Brain Injury / Z. Robateau, V. Lin, S. Wahlster // *Critical Care Clinics*. – 2024. – Vol. 40, № 2. – P. 367–390.
191. Role of the RAAS in mediating the pathophysiology of COVID-19 / J. Jasiczek, A. Doroszko, T. Trocha, M. Trocha. – DOI 10.1007/s43440-024-00596-3 // *Pharmacological Reports*. – 2024. – Vol. 76, № 3. – P. 475-486.
192. Role of renin-angiotensin system components in atherosclerosis: focus on Ang-II, ACE2, and Ang-1-7 // *Frontiers* : [website]. – URL:

<https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2020.01067/full> (date of access: 21.11.2022).

193. Rolling C.C. Platelet-monocyte aggregates: molecular mediators of thromboinflammation / C.C. Rolling, T.J. Barrett, J.S. Berger // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1–12.

194. Rumbaut R.E. Platelet-vessel wall interactions in hemostasis and thrombosis / R.E. Rumbaut, P. Thiagarajan. – San Rafael (CA) : Morgan & Claypool Life Sciences, 2010. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53450/> (date of access: 21.11.2022).

195. SARS-CoV-2 Infection Hospitalization Rate and Infection Fatality Rate Among the Non-Congregate Population in Connecticut / S. Mahajan, C. Caraballo, S.X. Li. – DOI 10.1016/j.amjmed.2021.01.020 // *Am J Med*. – 2021. – Vol. 134, № 6. – P. 812–816.e2.

196. Sharma S. Platelet in thrombo-inflammation: Unraveling new therapeutic targets / S. Sharma, T. Tyagi, S. Antoniak. – DOI 10.3389/fimmu.2022.1039843 // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1–17.

197. Should we stimulate or suppress immune responses in COVID-19? Cytokine and anticytokine interventions / Y. Jamilloux, T. Henry, A. Belot [et al.] // *Autoimmunity Reviews*. – 2020. – Vol. 19, № 7. – P. 1–13.

198. Shutdown Correlation with Thromboembolic Events in Severe COVID-19 Infection / F.L. Wright, T.O. Vogler, E.E. Moore [et al.]. – DOI 10.1016/j.jamcollsurg.2020.05.007 // *Journal of the American College of Surgeons*. – 2020. – Vol. 231, № 2. – P. 193–203.

199. «Silent» Presentation of hypoxemia and cardiorespiratory compensation in COVID-19 / P.E. Bickler, J.R. Feiner, M.S. Lipnick, W. McKleroy // *Anesthesiology*. – 2021. – Vol. 134. – P. 262–269.

200. Sinha P. Is a «Cytokine Storm» relevant to COVID-19? / P. Sinha, M.A. Matthay, C.S. Calfee. – DOI 10.1001/jamainternmed.2020.3313 // *JAMA Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 180, № 9. – P. 1152–1154.

201. Sproston N.R. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection / N.R. Sproston, J.J. Ashworth. – DOI 10.3389/fimmu.2018.00754 // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1–11.
202. Steinberg B.E. Do viral infections mimic bacterial sepsis? The role of microvascular permeability: A review of mechanisms and methods / B.E. Steinberg, N.M. Goldenberg, W.L. Lee. – DOI 10.1016/j.antiviral.2011.10.019 // *Antiviral Research*. – 2012. – Vol. 93, № 1. – P. 2–15.
203. Thachil J. The protective rather than prothrombotic fibrinogen in COVID-19 and other inflammatory states / J. Thachil. – DOI 10.1111/jth.14942 // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 18, № 8. – P. 1849–1852.
204. The basis examination of leukocyte-platelet aggregates with CD45 gating as a novel platelet activation marker / A. Nagasawa, K. Matsuno, S. Tamura [et al.]. – DOI 10.1111/ijlh.12051 // *Int J Lab Hematol*. – 2013. – Vol. 35(5). – P. 534–541.
205. The case of complement activation in COVID-19 multiorgan impact / M. Noris, A. Benigni, G. Remuzzi. – DOI 10.1016/j.kint.2020.05.013 // *Kidney International*. – 2020. – Vol. 98, № 2. – P. 314–322.
206. The COVID-19 cytokine storm; what we know so far / D. Ragab, H. Salah Eldin, M. Taeimah [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2020.01446 // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1–4.
207. The endothelium: gatekeeper to lung ischemia-reperfusion injury / H.Q. Ta, M. Kuppusamy, S.K. Sonkusare [et al.]. – DOI 10.1186/s12931-024-02776-4 // *Respiratory Research*. – 2024. – Vol. 25, № 1. – P. 172.
208. The jamovi project (2023). jamovi. (Version 2.4) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>.
209. The hemocyte counts as a potential biomarker for predicting disease progression in COVID-19: A retrospective study / Y. Zheng, Y. Zhang, H. Chi [et al.]. – DOI 10.1515/cclm-2020-0377 // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. – 2020. – Vol. 58, № 7. – P. 1106–1115.

210. The impact of immune system aging on infectious diseases // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/4/775> (date of access: 10.05.2024).
211. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness / F. Wang, H. Hou, Y. Luo. – DOI 10.1172/jci.insight.137799 // JCI Insight. – 2020. – Vol. 5, № 10. – P. e137799.
212. The mechanistic basis linking cytokine storm to thrombosis in COVID-19 / A. Wolf, F. Khimani, B. Yoon [et al.]. – DOI 10.1016/j.tru.2022.100110 // Thrombosis Update. – 2022. – Vol. 8. – P. 100110.
213. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome / M. Ranucci, A. Ballotta, U. Di Dedda [et al.]. – DOI 10.1111/jth.14854 // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2020. – Vol. 18, № 7. – P. 1747–1751.
214. The role of immune cells and inflammation in pulmonary hypertension: mechanisms and implications / H. Zhao, J. Song, X. Li [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2024.1374506 // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – P. 1374506.
215. The role of platelets in immune-mediated inflammatory diseases / M. Scherlinger, C. Richez, G.C. Tsokos [et al.]. – DOI 10.1038/s41577-023-00834-4 // Nature Reviews Immunology. – 2023. – Vol. 23, № 8. – P. 495–510.
216. The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease / Ed G. Rainger, M. Chimen, M.J. Harrison [et al.]. – DOI 10.3109/09537104.2015.1064881 // Platelets. – 2015. – Vol. 26, № 6. – P. 507–520.
217. The TXA2R rs1131882, P2Y1 rs1371097 and GPIIIa rs2317676 three-loci interactions may increase the risk of carotid stenosis in patients with ischemic stroke / X. Yi, J. Lin, Q. Zhou [et al.]. – DOI 10.1186/s12883-019-1271-0 // BMC Neurology. – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 44.
218. The values of coagulation function in COVID-19 patients / X. Jin, Y. Duan, T. Bao [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0241329 // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, № 10. – P. 1–12.

219. The vascular endothelium: the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection / S. Pons, S. Fodil, E. Azoulay, L. Zafrani. – DOI 10.1186/s13054-020-03062-7 // Critical Care. – 2020. – Vol. 24, № 353. – P. 1–8.

220. Thrombo-COVID-19 Collaborative. Clinical characteristics and risk factors for symptomatic venous thromboembolism in hospitalized COVID-19 patients: A multicenter retrospective study / J.Y. Li, H.F. Wang, P. Yin [et al.]. – DOI 10.1111/jth.15261 // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2021. – Vol. 19, № 4. – P.1038-1048.

221. Thrombocytopathy and Endotheliopathy: Crucial Contributors to COVID-19 Thromboinflammation / S.X. Gu, T. Tyagi, K. Jain [et al.] // Nature Reviews Cardiology. – 2021. – Vol. 3. – P. 194–209.

222. Thromboplasminflammation in COVID-19 coagulopathy: three viewpoints for diagnostic and therapeutic strategies // Frontier : [website]. – URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.649122/full> (date of access: 10.07.2022).

223. Trzebanski S. Plasticity of monocyte development and monocyte fates / S. Trzebanski, S. Jung. – DOI 10.1016/j.imlet.2020.07.007 // Immunology Letters. – 2020. – Vol. 227. – P. 66–78.

224. Ubhe A. IL-1 receptor antagonist: etiological and drug delivery systems overview. – DOI 10.1007/s00011-024-01960-y // Inflamm Res. – 2024. – Vol. 73. – P. 2231–2247.

225. Variation of PEAR1 DNA Methylation Influences Platelet and Leukocyte Function / B. Izzi, F. Gianfagna, W.Y. Yang [et al.] // Clinical Epigenetics. – 2019. – Vol. 11, № 1. – P. 151.

226. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis / C.S. Melincovici, A.B. Bosca, S. Susman [et al.] // Romanian Journal of Morphology and Embryology. – 2018. – № 2. – P. 455–467.

227. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19 / M. Leppkes, J. Knopf, E. Naschberger [et al.] // EBioMedicine. – 2020. – Vol. 58. – P. 1–9.

228. Vasculopathy and coagulopathy associated with SARS-CoV-2 Infection // MDPI : [website]. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/7/1583> (date of access: 10.07.2022).

229. Whole blood flow cytometry protocol for the assessment of platelet phenotype, function, and cellular interactions / H.P. Yaw, S. Van Den Helm, M. Linden [et al.] // Platelets. – 2021. – Vol. 32. – P. 786–793.

230. Yung S. Endothelial cell activation and glycocalyx shedding – potential as biomarkers in patients with lupus nephritis / S. Yung, T.M. Chan. – DOI 10.3389/fimmu.2023.1251876 // Frontiers in Immunology. – 2023. – Vol. 14. – P. 1251876.

231. Zha D. Vascular endothelial glycocalyx damage and potential targeted therapy in COVID-19 / D. Zha, M. Fu, Y. Qian. – DOI 10.3390/cells11121972 // Cells. – 2022. – Vol. 11, № 12. – P. 1972.