

УДК 616-005.3-07: 578.834.1

DOI 10.31684/25418475\_2021\_2\_95

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА

<sup>1</sup>Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Всеволожская клиническая межрайонная больница, г. Всеволожск

Матвиенко О.Ю.<sup>1</sup>, Смирнова О.А.<sup>1</sup>, Лернер А.А.<sup>2</sup>, Шведова Т.Н.<sup>2</sup>, Головина О.Г.<sup>1</sup>, Папаян Л.П.<sup>1</sup>

*Новая коронавирусная инфекция стала глобальной проблемой мирового сообщества. Развитие заболевания сопровождается нарушениями микроциркуляции, артериальными и венозными тромбозами, респираторным дистресс-синдромом, полиорганной недостаточностью. Поиск оптимальных лабораторных методов оценки состояния системы гемостаза у пациентов с новой коронавирусной инфекцией является важной задачей. Было обследовано 88 пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением новой коронавирусной инфекции, которым определяли генерацию тромбина в бедной тромбоцитами плазме. У пациентов с COVID-19 было выявлено значительное повышение генерации тромбина и снижение чувствительности к тромбомодулину, свидетельствующее о наличии выраженных гиперкоагуляционных изменений и угнетении работы системы протеина С, что может приводить к развитию тромбоемболических осложнений.*

**Ключевые слова:** гемостаз, COVID-19, генерация тромбина, тромбомодулин.

## ASSESSMENT OF THE STATE OF THE HEMOSTASIS SYSTEM IN PATIENTS WITH CORONAVIRUS INFECTION USING A THROMBIN GENERATION TEST

<sup>1</sup>Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia, St. Petersburg

<sup>2</sup>Vsevolozhsk Clinical Interdistrict Hospital, Vsevolozhsk

O.Yu. Matvienko<sup>1</sup>, O.A. Smirnova<sup>1</sup>, A.A. Lerner<sup>2</sup>, T.N. Shvedova<sup>2</sup>, O.G. Golovina<sup>1</sup>, L.P. Papayan<sup>1</sup>

*A new coronavirus infection has become a global problem in the world community. The development of the disease is accompanied by microcirculation disorders, arterial and venous thrombosis, respiratory distress syndrome, and multiple organ failure. The search for optimal laboratory methods for assessing the state of the hemostasis system in patients with the new coronavirus infection is an important task. We examined 88 patients with the severe and moderate new coronavirus infection, determined the generation of thrombin in platelet-poor plasma. Patients with COVID-19 showed a significant increase in thrombin generation and a decrease in sensitivity to thrombomodulin, indicating the presence of pronounced hypercoagulable changes and inhibition of the protein C system, which can lead to the development of thromboembolic complications.*

**Keywords:** hemostasis, COVID-19, thrombin generation, thrombomodulin.

Новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, была обнаружена впервые в г. Ухань в 2019 году и вскоре благодаря высокой контагиозности приобрела характер пандемии, став глобальной проблемой здравоохранения во всем мире. Известно, что течение COVID-19 ассоциировано с развитием так называемого цитокинового шторма, генерализованным повреждением эндотелия, который теряет свои атромбогенные свойства, активацией клеток крови с отделением микровезикул и снижением фибринолитической активности. Перечисленные патологические изменения являются причиной гиперкоагуляционных изменений, сопровождающихся тромбоемболизацией в ми-

кроциркуляторном русле, дистресс-синдромом и полиорганной недостаточностью [1, 2]. Одним из грозных осложнений COVID-19, ведущим к увеличению летальности, является развитие венозных тромбоемболических осложнений, которые достигают 18% у лиц с тяжелым течением новой коронавирусной инфекции, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии [3]. При скрининговом исследовании в остром периоде заболевания характерными являются повышенные показатели концентрации фибриногена и уровня D-димера, свидетельствующие о гиперкоагуляции. Однако, особенно на фоне специфической терапии, могут определяться и низкие значе-

ния протромбинового теста по Квику, концентрации фибриногена, количества тромбоцитов, что указывает на наличие разнонаправленных изменений и не дает возможности сделать однозначный вывод о состоянии системы гемостаза [4, 5]. В связи с этим, поиск оптимальных лабораторных методов оценки общего коагуляционного потенциала крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией является важной задачей. Большой интерес представляет использование интегральных методов исследования системы свертывания крови, которые позволяют оценить ее работу в целом, в частности, современный метод глобальной оценки состояния гемостаза – тест генерации тромбина. Тромбин является ключевым ферментом системы гемостаза, к его формированию приводит последовательная активация факторов свертывания крови в процессе развития коагуляционного каскада с включением механизмов положительной и отрицательной обратной связи, при этом система антикоагулянтов ограничивает генерацию тромбина в месте повреждения, не допуская развития генерализованного тромбообразования. Все изменения на этапах межфакторных взаимодействий в данном процессе оказывают влияние на количество, скорость образования и инактивации тромбина, т.е. отражают динамику генерации тромбина с учетом баланса про- и антикоагулянтных механизмов, обеспечивая высокую информативность данного метода оценки системы гемостаза [6].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке состояния системы гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в остром периоде заболевания с помощью теста генерации тромбина.

#### Материалы и методы

Нами было обследовано 88 пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, госпитализированных в инфекционный корпус ГБУЗ Ленинградской области «Всеволожская клиника межрайонная больница». В группу обследованных вошли 45 мужчин и 43 женщины в возрасте от 26 до 90 лет, медиана возраста составила 66 лет. Практически у всех пациентов отмечалось наличие сопутствующих хронических заболеваний, таких как гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет 2-го типа. Критериями исключения стало наличие онкологических заболеваний, иммунодефицитных состояний, а также постоянный прием антикоагулянтной терапии, рекомендованный до начала заболевания и госпитализации в стационар. Всем пациентам назначалась стандартная терапия, включающая антибактериальную, антикоагулянтную (эноксапарин натрия – 80 мг

в сутки), инфузионную (солевые растворы), гормональную терапию (глюкокортикостероиды), а также гидроксихлорохина сульфат и ингибиторы интерлейкина 6. Однако взятие образцов крови для исследования системы гемостаза осуществлялось в первые дни госпитализации в стационар, в 60% случаев до назначения какой-либо специфической терапии, в связи с чем можно утверждать, что влияние вышеперечисленных лекарственных препаратов, в том числе и антикоагулянтов, на систему гемостаза было минимальным. Оценку состояния системы гемостаза с помощью теста генерации тромбина осуществляли в лаборатории свертывания крови ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России». Образцы бедной тромбоцитами плазмы получали путем двойного центрифугирования при температуре 22°C: на первом этапе – в течение 10 мин при ускорении 120g, на втором – 30 мин при 2500g, в качестве стабилизатора использовали 3,8% цитрат натрия в соотношении с кровью 1:9. Тест генерации тромбина выполняли методом калиброванной автоматизированной тромбографии согласно методике, предложенной Hemker H., на планшетном флуориметре Fluoroskan (ThermoFisherScientific, Финляндия) с использованием реактива, содержащего тканевой фактор в конечной концентрации 5 пМ. Исследование проводили в бедной тромбоцитами плазме без добавления тромбомодулина (ТМ-) и с добавлением такового (ТМ+). Добавление в реакционную смесь тромбомодулина позволяет определить чувствительность к тромбомодулину, которая характеризует эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. С помощью прилагаемого программного обеспечения оценивали значения ETP (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль×мин), Peak thrombin (пиковое количество тромбина, нМоль). Чувствительность к тромбомодулину рассчитывали как процент (%) падения ETP и Peak thrombin после добавления тромбомодулина. В качестве контроля использовали образцы плазмы крови практически здоровых лиц.

Для статистической обработки использовали пакет STATISTICA 10, определяли медиану и 95% доверительный интервал (Me; 95% ДИ). Для сравнения показателей использовали критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

Результаты определения показателей генерации тромбина у пациентов с новой коронавирусной инфекцией представлены в таблице 1.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что показатели, характеризующие уровень эндогенного потенциала тромбина (ETP) у пациентов, были значительно выше, чем у здоровых лиц, как в постановке без добавле-

ния тромбомодулина, так и в его присутствии. Однако пиковое количество тромбина не достигало референтных значений в отсутствие тромбомодулина и имело лишь тенденцию к увеличению относительно нормальных значений при выполнении теста с добавлением данного реагента. Такая особенность, возможно, отражает действие эндогенных антикоагулянтов, направленное на ограничение образования тромбина. При этом обращает на себя внимание резкое падение чувствительности к тромбомодулину у обследованных пациентов, на что указывает значимое снижение процента падения пока-

зателей ЕТР и Peak thrombin после добавления тромбомодулина. Известно, что низкая чувствительность к тромбомодулину является результатом несостоятельности работы антикоагулянтной системы протеина С, что отражает дисбаланс системы гемостаза и является фактором риска развития тромбоэмболических осложнений. Угнетение работы системы протеина С у пациентов с новой коронавирусной инфекцией может развиваться на фоне остро текущего воспалительного процесса и быть значимым патогенетическим механизмом развития гиперкоагуляционных изменений.

Таблица 1

Показатели генерации тромбина пациентов с COVID-19 и здоровых лиц (Me, 95% ДИ: 2,5 и 97,5 процентиля)

Показатели	Пациенты (n=88)	Здоровые лица (n=21)	p*
ЕТР (ТМ-), нМ×мин	1883,4 1231,9-2793,5	1725,0 1210,5-2179,5	0,0466
Peak thrombin (ТМ-), нМ	230,6 120,0-460,1	288,6 193,24-376,53	0,029
ЕТР (ТМ+), нМ×мин	1458,4 709,7-2283,3	872,0 533,5-1390,5	0,00000001
Peak thrombin (ТМ+), нМ	197,3 84,1-449,4	173,28 113,6-313,0	0,296
Процент падения ЕТР, %	13,2 0,0-59,6	51,0 22,5-65,0	0,000000026
Процент падения Peak, %	4,0 0,0-39,8	35,0 14,5-53,5	0,000000002

Примечание: \*р – различия между группами пациентов и здоровых лиц.

### Заключение

Обследование пациентов на фоне острого течения новой коронавирусной инфекции показало наличие у них выраженного дисбаланса системы свертывания крови, обусловленного высоким уровнем эндогенного потенциала тромбина наряду с низкой эффективностью работы антикоагулянтной системы протеина С, что может быть одним из важных триггеров развития гиперкоагуляции и последующих тромботических осложнений при COVID-19. Использование такого интегрального теста исследования системы гемостаза как тест генерации тромбина, в том числе с добавлением тромбомодулина, является эффективным инструментом для оценки состояния системы свертывания крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, позволяющим выявлять гиперкоагуляционные изменения с учетом вклада антикоагулянтной системы протеина С. Учитывая, что на фоне инфекционного процесса часто встречаются нарушения в системе протеина С, использование модификации теста генерации тромбина с добавлением тромбомодулина представляет-

ся наиболее оптимальным для выявления изменений гемостаза у пациентов с COVID-19. Дальнейшие исследования с использованием теста генерации тромбина у пациентов с COVID-19 представляют большой интерес, так как они помогут определить факторы риска развития осложнений и предикторы неблагоприятных исходов заболевания, а также будут способствовать разработке эффективных схем тромбопрофилактики у данных больных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы:

1. Nicolai L., Leunig A., Brambs S. Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy. *Circulation*. 2020; 142(12): 1176-1189. <https://doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488>, PMID: 32755393.
2. Kipshidze N., Dangas G., White C. J. et al. Viral coagulopathy in patients with COVID-19: treatment and care. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020;

26: 1–7. <https://doi.org/10.1177/1076029620936776>, PMID: 32687449.

3. Ройтман Е.В., Вавилова Т.В., Маркин С.М., Кравцов П.Ф., Мазайшвилли К.В. Реалии применения антикоагулянтной терапии при COVID-19. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2021; 1: 18–25.

4. Работинский С.Е., Буланова Е.Л. Патогенетические механизмы развития гипофибриногенемии при COVID-19. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2021; 1: 26–30.

5. Матвиенко О.Ю., Корсакова Н.Е., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Папаян Л.П. Состояние плазменного звена гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2020; 4: 52–56.

6. Наместников Ю.А. Тест генерации тромбина: интегральный показатель системы свертывания крови. *Гематология и трансфузиология*. 2010; 55(2): 32–39.

#### References

1. Nicolai L., Leunig A., Brambs S. Immuno-thrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy. *Circulation*. 2020; 142(12): 1176–1189. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488>, PMID: 32755393.

2. Kipshidze N., Dangas G., White C. J. et al. Viral coagulopathy in patients with COVID-19: treatment and care. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020; 26: 1–7. <https://doi.org/10.1177/1076029620936776>, PMID: 32687449.

3. Roitman E.V., Vavilova T.V., Markin S.M., Kravtsov P.F., Mazayshvilli K.V. Realities of the use of anticoagulant therapy in COVID-19. *Tromboz, Gemostaz i Reologia*. 2021; 1: 18–25. (In Russ.)

4. Rabotinsky S.E., Bulanova E.L. Pathogenetic mechanisms of development of hypofibrinogenemia in COVID-19. *Tromboz, Gemostaz i Reologia*. 2021; 1: 26–30. (In Russ.)

5. Matvienko O.Yu., Korsakova N.E., Lerner A.A., Shvedova T.N., Papayan L.P. Plasma hemostasis in patients with coronavirus infection caused by SARS-CoV-2. *Tromboz, Gemostaz i Reologia*. 2020; 4: 52–56. (In Russ.)

6. Namestnikov Yu.A. Thrombin generation test: an integral indicator of the blood coagulation system. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2010; 55(2): 32–39. (In Russ.)

#### Контактные данные

Автор, ответственный за переписку:  
Матвиенко Олеся Юрьевна, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории свертывания крови Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург. 191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, 16. Тел.: +79818517656. E-mail: matolesya@mail.ru

#### Информация об авторах

Смирнова Ольга Анатольевна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории свертывания крови Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург. 191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, 16. Тел.: +7 (812) 7102309. E-mail: bloodscience@mail.ru

Лернер Анна Александровна, к.м.н., заведующая отделением клинической лабораторной диагностики ГБУЗ Ленинградской области «Всеволожская клиническая межрайонная больница», г. Всеволожск. 188643, г. Всеволожск, Колтушское шоссе, 20. Тел.: +7 (81370) 43149. E-mail: cmo@vkmb.ru

Шведова Тамара Николаевна, врач клинической и лабораторной диагностики отделения клиническо-лабораторной диагностики ГБУЗ Ленинградской области «Всеволожская клиническая межрайонная больница», г. Всеволожск. 188643, г. Всеволожск, Колтушское шоссе, 20. Тел.: +7 (81370) 43149. E-mail: cmo@vkmb.ru

Головина Ольга Георгиевна, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории свертывания крови Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург. 191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, 16. Тел.: +7 (812) 7102309. E-mail: bloodscience@mail.ru

Папаян Людмила Петровна, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории свертывания крови Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург. 191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, 16. Тел.: +7 (812) 7102309. E-mail: bloodscience@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-3114-7414>

Поступила в редакцию 12.05.2021

Принята к публикации 27.05.2021

**Для цитирования:** Матвиенко О.Ю., Смирнова О.А., Лернер А.А., Шведова Т.Н., Головина О.Г., Папаян Л.П. Оценка состояния системы гемостаза у пациентов с коронавирусной инфекцией с помощью теста генерации тромбина. *Бюллетень медицинской науки*. 2021;2(22): 95–98.

**Citation:** Matvienko O.Yu., Smirnova O.A., Lerner A.A., Shvedova T.N., Golovina O.G., Papayan L.P. Assessment of the state of the hemostasis system in patients with coronavirus infection using a thrombin generation test. *Bulletin of Medical Science*. 2021;2(22): 95–98. (In Russ.)