

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА

БЕРКО ЯНА АНДРІЇВНА

Допускається до захисту:

завідувач кафедри біофізики і фізіології

кандидат хім. наук, доцент

О. І. Доценко

« _____ » _____ 20 ____ р.

**ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА КОРОНАВІРУСНУ
ІНФЕКЦІЮ**

Спеціальність 091 Біологія

Кваліфікаційна (магістерська) робота

Науковий керівник:

Г.В. Тарадіна, ст. викладач

кафедри біофізики і фізіології

Оцінка: _____ / _____ /

Голова ЕК: _____

Вінниця 2023

АНОТАЦІЯ

Берко Я.А. Особливості гемостазу у хворих на коронавірусну інфекцію. Спеціальність 091 «Біологія», Освітня програма «Біологія». Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, 2023.

В кваліфікаційній (магістерській) роботі досліджено зміни показників гемостазу у хворих на COVID-19: рівень, обсяг та розподіл тромбоцитів, протромбіновий індекс, міжнародне нормалізоване відношення, активований частковий тромбопластиновий час, рівень фібриногену і розчинних мономерних комплексів фібрину. Показано залежність показників гемостазу від ступені важкості хвороби

Ключові слова: Covid-19, показники гемостазу, коагулопатія

47 с., 4 табл., 10 рис., 40 джерел.

Berko Y. Peculiarities of hemostasis in patients with Covid-19. Specialty 091 "Biology", Educational program "Biology ". Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnytsia, 2023.

In the qualification (master's) thesis, changes in hemostasis indicators in patients with COVID-19 were investigated: the level, volume and distribution of platelets, prothrombin index, international normalized ratio, activated partial thromboplastin time, the level of fibrinogen and soluble monomeric complexes of fibrin. The dependence of hemostasis indicators on the severity of the disease is shown

Keywords: Covid-19, indicators of hemostasis, coagulopathy

47 p., 4 tabl., 10 Fig., 40 Bibliography items.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1 Загальна характеристика хвороби Covid-19	7
1.2 Сучасні моделі гемостазу	8
1.3 Клінічні показники гемостазу та їх зміни при Covid-19	13
1.3.1 Тромбоцити	13
1.3.2. Середній об'єм тромбоцитів	16
1.3.3 Ширина розподілу тромбоцитів	17
1.3.4 Протромбіновий час і активований частковий тромбопластиновий час	18
1.3.5 D-димери	19
1.3.6 Розчинні комплекси мономерного фібрину	20
1.4 Зміни фібринолітичної системи та антикоагуляції в ході зараження SARS-CoV-2	21
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	28
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРЕМЕНТУ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	30
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

IL – інтерлейкін;

MPV – середній об'єм тромбоцитів;

PAI – плазміноген;

PDW – ширина розподілу тромбоцитів;

PLT – тромбоцити;

TF – тканинний фактор;

TFPI – специфічний інгібітор шляху тканинного фактора;

TNF – фактор некрозу пухлини.

АЧТЧ – Активований частковий тромбопластиновий час;

ВМК – високомолекулярний кініноген;

ВТЕ – венозна тромбоемболія;

ГРДС – гострий респіраторний дистрес-синдромом;

ДВЗ – дисеміноване внутрішньо судинне згортання;

МНВ – міжнародне нормалізоване відношення;

МНВ – показник протромбінового тесту;

ПЗС – протизгортаюча система;

ПТІ – протромбіновий індекс;

ПЧ – протромбіновий час;

РКМФ – розчинні комплекси мономерного фібрину;

ТМА – тромботичні мікроангіопатії;

ТТ – тромбіновий час;

ФФ – фосфоліпіди;

ЧТЧ – частковий тромбопластиновий час;

ВСТУП

Перші випадки пандемії Covid-19, спричиненої SARS-CoV-2, були виявлені наприкінці 2019 року, а в березні 2020 року її вважали клінічною пандемією. У березні 2022 року понад 500 мільйонів людей були інфіковані, а 6,2 мільйона померли. Результат цього захворювання, все частіше пов'язаний зі змінами гемостазу людини, такими як гіперкоагуляція. Численні фактори сприяють розвитку гіперкоагуляції, головним з яких є ендотеліальна дисфункція, оскільки активація цих клітин може сильно активувати тромбоцити та систему згортання крові. Утворення тромбу в структурі мікроциркуляторного русла легенів у пацієнтів з Covid-19 є важливим фактором для визначення тяжкості клінічної картини та результату цього захворювання. Дослідження гемостатичних змін, які відбуваються при інфекції SARS-CoV-2 необхідні для подальшого покращення розуміння патогенних механізмів і взаємодії між дисфункцією ендотелію, системами коагуляції/фібринолізу як основних ефекторів Covid-19. Ці знання мають вирішальне значення для розробки нових ефективних терапевтичних підходів клінічного лікування, розробки вакцин та/або конкретних препаратів, спрямованих на процеси Covid-19 [1].

У зв'язку з цим, *мета роботи* полягала в аналізі показників гемостазу пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19.

Задачі дослідження:

1. За допомогою статистичних методів дослідити зміни показників, а саме – кількості, обсягу та ширини розподілу тромбоцитів, протромбінового часу та активованого тромбoplastинового часу, фібриногену, розчинних низькомолекулярних комплексів фібрину у пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19.

2. Порівняти значення гематологічних показників від ступеню важкості хвороби

Об'єкт дослідження – пацієнти з підтвердженим діагнозом Covid-19.

Предмет дослідження – особливості показників гемостазу.

Методи дослідження: аналіз літературних джерел, систематизація та узагальнення експериментальних даних, статистичні методи аналізу.

Структура та обсяг роботи. Загальний обсяг роботи становить 47 сторінки. Робота складається з вступу, 3 розділів, висновків та списку використаних джерел.



РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальна характеристика хвороби Covid-19

Covid-19 — це захворювання, спричинене коронавірусом важкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-2), вірусом родини Coronaviridae з оболонкою та геномом, що складається з одного ланцюга позитивної РНК.

Covid-19 — це захворювання, спричинене новим коронавірусом SARS-CoV-2 [2, 3]. Більшість пацієнтів із Covid-19 розвивають симптоми інфекції дихальних шляхів, частина яких трансформується у системне захворювання із тяжчим перебігом, що характеризується рефрактерною лихоманкою, гострим пошкодженням легенів із гострим респіраторним дистрес-синдромом (ГРДС), поліорганною недостатністю, шоком і високою летальністю [4].

Ретельне спостереження за хворими на Covid-19 показало, що у багатьох із них спостерігалися порушення в результатах лабораторних досліджень системи згортання крові, які нагадують інші системні коагулопатії, наприклад дисеміноване внутрішньо судинне згортання (ДВЗ) або тромботичні мікроангіопатії (ТМА). Також досить скоро виявилось, що Covid-19-асоційована коагулопатія у той же час має ознаки, що відрізняють її як від ДВЗ, так і від ТМА [5].

Існують переконливі докази складного зв'язку між вірусними інфекціями, запальними процесами та ендотеліальними клітинами. У нормальних умовах гемостазу ендотелій підтримує баланс між прокоагулянтними та фібринолітичними факторами, виробляючи молекули, які пригнічують агрегацію тромбоцитів, запобігають згортанню крові. Коли ендотеліальні клітини стикаються з патогенно-асоційованими молекулярними структурами, такими як ліпополісахариди, прозапальні цитокіни, інтерлейкін 1, фактор некрозу пухлин, вони активуються. Активація ендотеліальних клітин також може відбуватися як прямий цитопатичний ефект вірусної інфекції. Хоча повідомлялося, що SARS-CoV-2 безпосередньо інфікує судинні органоїди, досі

неясно, чи пошкодження судин можна віднести до системної запальної відповіді чи є прямим наслідком вірусної інфекції та реплікації [6].

Ендотеліальна активація є ключовою подією, яка сприяє активації тромбоцитів, змінам гемостазу та збільшенню проникності судин зі зниженням концентрації молекул, що запобігають згортанню крові [6]. Після активації клітини ендотелію можуть експресувати та проявляти активність тканинного фактора, підсилюючи ферментативну активність білків коагуляційного каскаду та запускаючи генерацію тромбіну та утворення згустку. Ці клітини також вивільняють фактор фон Віллебранда, стимулюючи адгезію та агрегацію тромбоцитів.

Інфекція ендотелію SARS-CoV-2 також викликає секрецію прозапальних інтерлейкінів (IL-1, IL6) [6]. IL-1 може індукувати вироблення більшої кількості IL-1, IL-6 та інших прозапальних цитокінів, і це надвиробництво називається «цитокіновим штормом».

1.2 Сучасні моделі гемостазу

Гемостаз забезпечується декількома взаємопов'язаними структурно-функціональними компонентами, до яких належать коагулянтна ланка (плазмові фактори), антикоагулянтна ланка (фізіологічні антикоагулянти), фібринолітична система, клітинні фактори формених елементів крові, фактори згортання і фібринолізу судинної стінки та навколишніх тканин. Їх взаємодія дозволяє системі гемостазу знаходитися в межах фізіологічних коливань: між гіпо- та гіперкоагуляцією. Для збереження крові у фізіологічному стані необхідна структурна та функціональна цілісність судинного ендотелію. При будь-якому пошкодженні тканин основним фізіологічним бар'єром є стінка мікросудини і моношар ендотеліальних клітин, які відповідають на ушкодження вазоконстрикцією, ендотелій судин трансформується в потужну прокоагулянтну поверхню, яка сприяє адгезії тромбоцитів та лейкоцитів. Залежно від розміру ушкодженої судини визначають два основні механізми гемостазу: судинно-тромбоцитарний та коагуляційний. Перший забезпечує зупинку кровотечі у

мікроциркуляторних судинах (<100 мкм) із низьким артеріальним тиском. Так, при ушкодженні ендотелію дрібних судин відбувається рефлекторний спазм із подальшим утворенням тромбоцитарного згустку [7].

Для трактування лабораторних показників системи згортання крові дотепер використовується каскадна модель гемостазу, що описує послідовність реакцій активації компонентів плазми крові, які беруть участь у згортанні крові, та включала три шляхи активації коагуляції: внутрішній, зовнішній та загальний (рис. 1.1) [8].

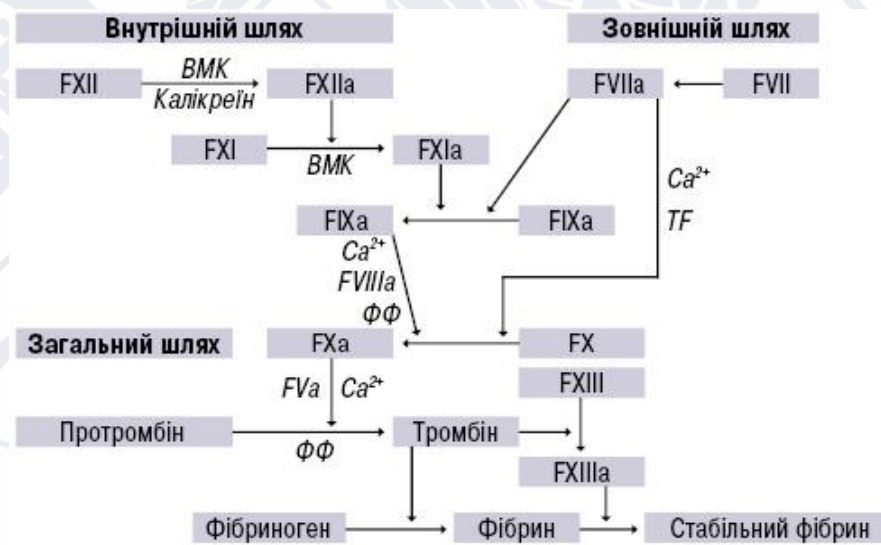


Рис. 1.1. Каскадна модель гемостазу [7]

Зовнішній шлях отримав таку назву, оскільки ініціювався елементами, в нормі відсутніми у внутрішньосудинному просторі. Так, для його ініціації необхідний тканинний фактор (TF), розміщений в субендотеліальному просторі. При цьому взаємодія субендотеліального простору з кров'ю виникає тільки при травматизації стінки судини. Цей шлях ініціюється при контакті TF із фактором VII (FVII), що сприяє активації останнього й утворення комплексу FVIIa-TF, який активує фактори IX (FIX) і X (FX). У свою чергу, FXa разом із фактором V (FV) утворюють протеолітичний комплекс, який бере участь у реакції перетворення протромбіну в тромбін та утворення фібринового згустку.

Внутрішній шлях ініціювався компонентами, наявними у внутрішньосудинному просторі. Так, фактор XII (FXII) був активований при

контакті з колагеном, що ініціює його активацію та утворення білкових комплексів, включно з калікреїном і високомолекулярним кініногеном (ВМК). Далі каскадом активуються фактори XI (FXI) та FIX. При цьому FIX здатний утворювати комплекс із фактором VIII (FVIII), що в подальшому сприяє активації фактора X.

Загальний шлях об'єднував зовнішній і внутрішній шляхи та охоплював утворення протромбіназного комплексу, який представлений FXa, FVa, Ca²⁺ і фосфоліпідами (ФФ) та відповідає за частковий протеоліз протромбіну, тим самим перетворюючи його у тромбін. Далі під дією тромбіну відбувається трансформація фібриногену в фібрин.

Необхідність перегляду каскадної моделі гемостазу була зумовлена новими даними про роль клітинних структур у коагуляційних реакціях. Так, дуже важливі для розуміння фізіології гемостазу дані, отримані М. Hoffman та D.M. Monroe [9], щодо оцінки динаміки утворення тромбіну. Результати цього дослідження продемонстрували, що різні коагуляційні фактори локалізуються на поверхнях субендотеліальних клітин і тромбоцитів, що й дозволило переглянути каскадну модель гемостазу. Однак ця модель все ще не втратила своєї актуальності, оскільки є більш придатною для розуміння базових методів лабораторної діагностики. Так, каскадна модель з успіхом інтерпретує скринінгові коагуляційні тести, в яких штучно змодельовано умови активації FX: внутрішній шлях - час згортання венозної крові, активований час рекальцифікації, активований парціальний (частковий) тромбопластиновий час (АПТЧ); зовнішній шлях - протромбіновий час (ПЧ) [7].

Зазвичай лабораторні тести можуть відображати рівень факторів згортання крові, але не здатні передбачати ризик кровотечі. Крім того, процеси коагуляції, які можна спостерігати *in vitro*, не відображають повної картини процесів гемостазу *in vivo*. Так, каскадна модель не в змозі пояснити причини, чому активація FX по зовнішньому шляху через комплекс FVIIa-TF не компенсує недостатності FVIII та FIX; відповідно, дефіцит FVII не компенсується FVIII та FIX; дефіцит FXII, як і дефіцит ВМК та прекалікреїну, не викликає схильності до

кровотеч, хоча внутрішній шлях починається з його активації; дефіцит FXI клінічно відчувається набагато легше порівняно з дефіцитом FVIII та FIX.

Сучасна модель гемостазу — клітинна, або клітинноасоційована, відповідно до якої активацію, локалізацію та концентрацію коагуляційних білків забезпечують аніонні ФФ мембран, рецептори і місця зв'язування клітин (тромбоцитів, ендотеліоцитів, лейкоцитів). Клітинна модель гемостазу описує гемостатичний процес, що відбувається за сучасними уявленнями *in vivo* та не заперечує реакції взаємодії і властивості факторів системи гемостазу, протизгортаючої (ПЗС) і фібринолітичної систем, представлених у класичній каскадній моделі гемостазу. Клітинна модель визнає наявність зовнішнього та внутрішнього шляху згортання, але істотно їх модифікує. Система гемостазу складається з факторів згортання, більшість з яких — протеїни, які в невеликій кількості циркулюють у плазмі крові як неактивні проензими (зимогени). Відповідно до клітинної моделі гемостазу, процес згортання крові представлений у вигляді трьох фаз: ініціації (initiation), посилення (amplification) і поширення (propagation), кожна з яких включає декілька послідовних стадій (рис. 1.2).

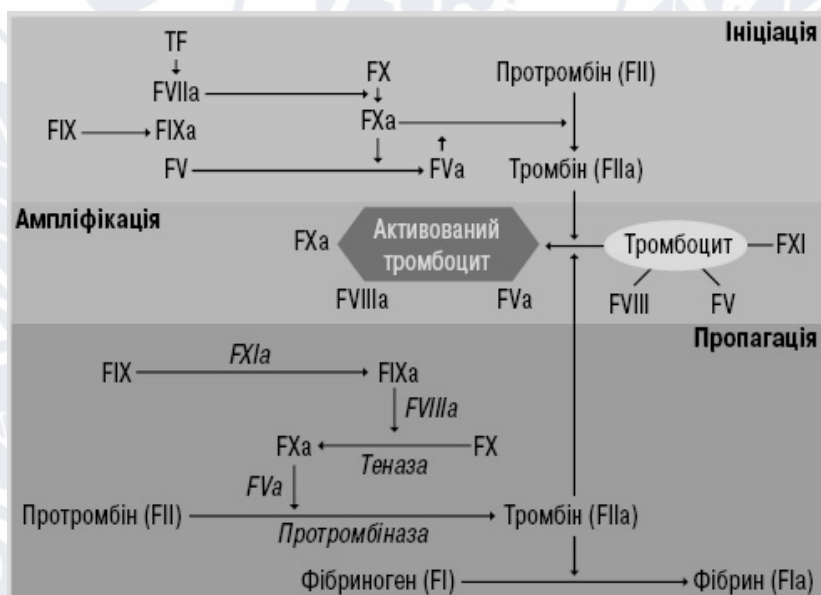


Рис. 1.2. Клітинна модель гемостазу [7]

Перший етап ініціації починається з того, що внаслідок травматизації судинної стінки кров контактує із клітинами, на мембрані яких розташований TF, що дозволяє FVII створити комплекс TF-VIIa-Ca²⁺, який у подальшому сприяє активації FIX і FX. При цьому за механізмом позитивного зворотного зв'язку FXa стимулює утворення нових порцій FVIIa. FXa активує FV, що дозволяє утворити комплекс Va-Xa-Ca²⁺, який бере участь в утворенні невеликих порцій тромбіну. Останній відіграє важливу роль у стадії ампліфікації. Крім того, у фазі ініціації наявні механізми, спрямовані на обмеження утворення тромбіну, — так звана ПЗС, що включає специфічний інгібітор шляху тканинного фактора (TFPI), що зв'язує FXa, утворюючи комплекс TFPI-FXa, який здатен пригнічувати TF-VIIa-Ca²⁺, та антитромбін III, який інгібує тромбін та FXa в момент переходу їх з поверхні клітин, які містять TF, в навколишнє середовище.

Фаза посилення (ампліфікації) відбувається на поверхні тромбоцитів і включає такі стадії: активація тромбоцитів, FV, FVIII і FXI; утворення тенази, протромбінази і тромбіну. Тромбін сприяє активації тромбоцитів та їх адгезії на пошкодженій поверхні судини. Активовані тромбоцити вивільняють у плазму крові серотонін, аденозиндифосфат, фактор Віллебранда (vWF), фібриноген та інші фактори, що сприяють процесу гемостазу. Далі тромбін активує FV, FVIII, що пов'язані з vWF та FXI, які розміщені безпосередньо на мембрані тромбоцитів. Важливо пам'ятати, що FVIII перебуває в комплексі з vWF, який перешкоджає його руйнуванню. Коли відбувається активація FVIII, цей комплекс руйнується, дозволяючи vWF брати участь у процесах адгезії та агрегації тромбоцитів. FVIII за участю ФФ та Ca²⁺ утворює комплекс із FIXa, який має назву «теназа/теназний комплекс» та здатен активувати FX. Останній може утворювати комплекс із FVa, який має назву «протромбіназа» і відповідає за так званий «тромбіновий вибух» — утворення значної кількості тромбіну, що сприяє утворенню стабільного фібринового згустку.

Третя фаза має назву поширення, або пропагація, та включає дві стадії: утворення фібрину; утворення фактора FXIIIa та фібринового згустку. Фаза характеризується активацією FIX з подальшим утворенням теназного комплексу,

що сприяє утворенню нових порцій протромбінази, часткового протеолізу протромбіну та, відповідно, утворення нового тромбіну. Перша стадія утворення тромбіну характеризується тим, що тромбін бере участь у реакції активації фібриногену, що, відповідно, призводить до перетворення останнього в фібрин-мономер, який в подальшому утворює фібриновий згусток. Крім того, під впливом тромбіну відбувається активація FXIII, так званого фібринстабілізуючого фактора, який сприяє утворенню міжмолекулярних глутаміл-лізилових ізопептидних зв'язків між ланцюгами фібрину, підвищуючи механічну стабільність фібрину та стійкість фібринового згустку до лізису [7].

1.3 Клінічні показники гемостазу та їх зміни при Covid-19

1.3.1 Тромбоцити

Тромбоцити — це без'ядерні клітинні фрагменти, які походять із мегакаріоцитів кісткового мозку та легень. Коли відбувається ураження судин, тромбоцити швидко прилипають до оголеного субендотелію. Внаслідок цієї адгезії тромбоцити активуються, відбувається зміна організації їх цитоскелету, який змінює свою форму від дискоїдної до неправильної з утворенням філоподій, агрегацію тромбоцитів [1].

У багатьох пацієнтів із Covid-19, переважно тих, хто перебуває у відділеннях інтенсивної терапії, спостерігається тромбоцитопенія, яка пов'язана з поганими клінічними результатами. Тромбоцитопенію пов'язують з розвитком важкої форми Covid-19 [10]. Деякі механізми, запропоновані як основні шляхи, що призводять до тромбоцитопенії при Covid-19, це: порушення виробництва тромбоцитів, виснаження імунітету і захоплення всередині зростаючого тромбу, периферична емболізація [10].

Деякі маркери активності тромбоцитів, такі як зрілість і розмір тромбоцитів, суттєво пов'язані з важкими випадками Covid-19 і летальністю. Крім того, було показано, що існує різниця в транскриптомі тромбоцитів, виділених у пацієнтів із Covid-19, порівняно з неінфікованими тромбоцитами. Фенотип тромбоцитів більш незрілий, і на метаболічних шляхах відбуваються зміни, включаючи

окисне фосфорилування та гліколіз. Тромбоцити діють не поодиночки, оскільки вони підсилюють випромінювання позаклітинних везикул і експресію тканинного фактора в моноцитах через взаємодію Р-селектину з Р-селективним глікопротеїновим лігандом-1, який виявляється на поверхні моноцитів і нейтрофілів. Зв'язок із дисфункціональним ендотелієм і нейтрофілами є ключовими моментами для активації нейтрофілів і тромбоцитів [1, 10].

Зібрані до цього часу знання показали, що деякі механізми активації тромбоцитів сприяють тромботичним ефектам Covid-19, отже, зміни тромбоцитів мають відношення до розвитку та симптомів цієї хвороби.

Результати лабораторних досліджень показали, що приблизно у чверті випадків Covid-19 спостерігається тромбоцитопенія, і близько половини цих пацієнтів піддаються інфекції через коагулопатію. Ці висновки позиціонують PLT як опору в лікуванні, а також стратифікації пацієнтів з Covid-19; однак не всі лікарі прийшли до єдиної думки щодо прогностичного значення цих клітин[11].

Слід зазначити, що тромбоцитопенія не завжди є ранньою подією при Covid-19, оскільки значна кількість пацієнтів може відчувати її під час прогресування захворювання через кілька днів після інфікування (пізня фаза тромбоцитопенії) [11].

Поки що механізми, що призводять до відстроченої тромбоцитопенії, не були добре описані. Можливо, госпітальний сепсис може бути основною причиною розвитку тромбоцитопенії у пацієнта з Covid-19 у відділенні інтенсивної терапії. В результаті бактеріального сепсису під час госпіталізації вивільняються молекулярні структури, пов'язані з патогенами і молекулярні структури, пов'язані з пошкодженнями, які, у свою чергу, залучають вроджену руку імунної системи, виробляючи прозапальні цитокіни, такі як IL-1 β , IL-6, TNF- α . Одночасно вірусна інфекція також може активувати В-клітини для вироблення прозапальних цитокінів і аутоантитіл, які взаємодіють з глікопротеїнами PLT. Після вироблення прозапальних цитокінів моноцити/макрофаги та нейтрофіли притягуються до місця інфекції, щоб

протистояти патогенам. Крім того прозапальні цитокіни можуть альтернативно стимулювати коагуляційну систему, а вплив тканинного фактора на поверхню моноцитів/макрофагів або нейтрофілів може згодом активувати тромбін. У результаті каскад коагуляції поширюється, і в кінцевому підсумку споживається значна кількість PLT. Слід також зазначити, що оскільки бактеріальний сепсис може перешкоджати експресії інгібітора активатора плазміногену-1 (PAI-1), тому фібриноліз припиняється, і кількість PLT знижуватиметься більш інтенсивно у пацієнтів з Covid-19, які потрапили до реанімації[12].

Простими словами, зміна рівня PLT може відігравати вирішальну роль у прогресуванні захворювання: що нижчий рівень PLT, то гірший результат і вищий ризик смертності [13].

Як уже згадувалося, кількість PLT є цінним прогностичним маркером у пацієнтів з Covid-19, оскільки значна кількість досліджень повідомляє про зв'язок між низьким рівнем PLT і тяжкістю захворювання. У нещодавньому *meta* аналізі Bashash et al. вказали, що тромбоцитопенія може значно збільшити ризик прогресування захворювання, і запропонували, щоб щоденний моніторинг кількості тромбоцитів міг належним чином віддзеркалювати результати пацієнтів з Covid-19 [14].

Zhao et al. запровадили кількість PLT як динамічний чутливий параметр для вірусної інфекції на ранній стадії захворювання, оскільки тромбоцити мають короткий життєвий цикл і їх зберігання на ВМ є критично низьким. Автори припустили, що серед багатьох запальних факторів і молекул PLT є надійними клітинами для розподілу пацієнтів відповідно до медичної допомоги, яка їм потрібна [15].

Частота тромбоцитопенії також може впливати на інші лабораторні результати. Повідомлялося, що порівняно з пацієнтами без тромбоцитопенії, ті з нижчим рівнем PLT мають нижчий рівень кисню, а також вищі рівні сечовини в крові, загального білірубину, лактатдегідрогенази та послідовну оцінку органної недостатності [16]. Бао та ін. вказали, що тромбоцитопенія у хворих на Covid-19 є дзеркалом пошкодження кісткового мозку, дефекту внутрішньосудинної

коагуляції та активації ендотелію судин [17]. Загалом частота тромбоцитопенії є критичною подією при інфекції SARS-CoV-2, яка може не тільки посилити респіраторні симптоми, але й збільшити ризик смертності[16].

1.3.2. Середній об'єм тромбоцитів

Після встановлення зв'язку кількості тромбоцитів з Covid-19 багато дослідників наразі шукають поєднання середнього об'єму тромбоцитів (MPV) та інших лабораторних/клінічних результатів для створення алгоритму для прогнозування прогресування хвороби [1]. З літературних даних відомо, що середній об'єм тромбоцитів (MPV) також може мати прогнозний потенціал при Covid-19.

Високий MPV разом із швидким підвищенням співвідношення тромбоцитів до великих клітин (P-LCR) і ширини розподілу тромбоцитів (PDW) протягом 2 тижнів після діагностики захворювання може збільшити ризик смерті у 2–5 разі [18]. Zhong та ін. запровадив співвідношення, що називається середнім об'ємом тромбоцитів/співвідношення кількості тромбоцитів (MPR), яке визначається діленням MPV на кількість тромбоцитів [19]. Вони використовували це співвідношення для прогнозування результатів пацієнтів з Covid-19 і припустили, що ті пацієнти, які мали вищий рівень середнього об'єму тромбоцитів/співвідношення кількості тромбоцитів в першу, другу і третю добу після встановлення діагнозу розвинулася важка пневмонія; вказуючи на те, що середній об'єм тромбоцитів/співвідношення кількості тромбоцитів є незалежним фактором стратифікації ризику для пневмонії. В іншому дослідженні було запропоновано комбінацію кількості PLT, MPV і співвідношення нейтрофілів для визначення потреби пацієнта у застосуванні інтенсивної терапії [20]. Хоча MPV в багатьох дослідженнях вважається фактором стратифікації ризику, деякі інші дослідження не змогли виявити жодного зв'язку між MPV та тяжкістю Covid-19. Aktaş et al. повідомили, що немає кореляції між значенням MPV та іншими лабораторними результатами, такими як кількість лейкоцитів, СРБ і рівні прокальцитоніну у пацієнтів з Covid-19 [23] .

1.3.3 Ширина розподілу тромбоцитів

Ширина розподілу тромбоцитів (PDW) — це лабораторний тест, який вимірює об'ємну варіабельність розміру тромбоцитів, забезпечуючи показник неоднорідності морфології тромбоцитів [14]. PDW широко використовується як індикатор функції та активації тромбоцитів, і повідомляється як більш специфічний маркер активації тромбоцитів, оскільки він не збільшується під час простого набухання тромбоцитів, що свідчить про вищі значення PDW при надходженні до відділень внутрішньої медицини, пов'язані з більш важким клінічним профілем і підвищеним ризиком 90-денної смертності.

Результати досліджень, представлених в літературі свідчать про те, що під час інфекції Sars-Cov-2 тромбоцити відіграють важливу роль в процесі імунотромбозу. Реактивність тромбоцитів відображається морфофункціональними змінами, такими як збільшення MPV і PDW, як індикаторів неоднорідності тромбоцитів [21].

Систематичний огляд виявив широку гетерогенність обстежених груп хворих на Covid-19 і відсутність однорідного вираження тромбоцитарних індексів. Було виявлено, що 75 % досліджень повідомляли про значно підвищені значення PDW у групах інфікованих Covid-19 порівняно зі здоровими/не хворими на Covid-19 (контрольною групою), а 40 % досліджень повідомляли, що у пацієнтів із тяжким перебігом Covid-19 показники PDW збільшені, ніж у пацієнтів із хворобою з середнім та легким ступенем важкості. Загалом, ці результати свідчать про те, що тромбоцити відіграють важливу роль у процесі імунотромбозу при Covid-19, а реактивність тромбоцитів і морфофункціональні зміни віддзеркалюються PDW як індикатор гетерогенності тромбоцитів. Ця гетерогенність викликана високим рівнем циркулюючих гістонів, які представляють критичні тригери, виявлені при підвищеній концентрації в зразках крові пацієнтів із Covid-19 і сепсисом, які, як відомо, можуть викликати тромбоцитопенічний стан і гетерогенність тромбоцитів. Наразі використання PDW як прогностичних біомаркерів сепсису Covid-19 все ще залишається

дискусійним через обмежену кількість досліджень, але нові можливості для дослідження вирішальної ролі тромбоцитів у запаленні тромбу виправдані [21].

1.3.4 Протромбіновий час і активований частковий тромбопластиновий час

Протромбіновий час (ПТЧ) – це показник, який дозволяє оцінити стан зовнішнього шляху згортання крові, пов'язані з дефіцитом або дефектом фібриногену (фактора I), протромбіну (фактора II), факторів V (проакцелерина), VII (проконвертина), X (фактора Стюарта-Прауэра). З літературних даних відомо, що протромбіновий час (ПЧ), виміряний на момент поступлення в лікарню, був незначно довшим у пацієнтів із Covid-19, які потім померли, порівняно з ПЧ у пацієнтів, які вижили. ПЧ на момент госпіталізації був мінімально довшим у пацієнтів, які потребували лікування у відділенні інтенсивної терапії, порівняно з хворими на Covid-19, які не потребували штучної вентиляції легенів [25]. Враховуючи наведені вище дані про ПЧ, ISTH рекомендує вимірювати ПЧ у всіх пацієнтів із Covid-19.

Іншим загальнодоступним лабораторним тестом на гемостаз є активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), який відображає процес згортання крові, залежний від факторів згортання, т. зв. внутрішній шлях (фактори згортання XII, XI, IX і VIII) і загального шляху (фактори згортання X, V, II і I). Активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) є показником, який оцінює здатність організму утворювати тромби. Вимірюється він у секундах і вказує на час, необхідний для утворення згустку в зразку крові і визначає функцію білків-факторів згортання крові. Під час утворення згустку крові поетапно активуються фактори згортання крові. Результатом цих послідовних реакцій є утворення високомолекулярного білка фібрину.

У дослідженні Tang і співавторів. АЧТЧ був довшим у групі пацієнтів із Covid-19, які згодом померли, порівнюючи з групою хворих, які вижили, хоча різниця не була статистично значущою. Експерти ISTH не вказали на АЧТЧ як на тест, який слід виконувати у всіх госпіталізованих пацієнтів із Covid-19. Однак

в інших дослідженнях АЧТЧ входить до числа рекомендованих тестів, які слід проводити хворим на Covid-19, що перебувають на лікуванні в стаціонарі [25].

Хоча кілька досліджень показують, що АЧТЧ, і особливо РТ, також значно вищі у пацієнтів, які померли, ніж у людей, які мали менш важкі випадки Covid-19, мета-аналіз показав, що результати, описані в літературі, є дуже неоднорідними, що вимагає обережності. і більше даних для встановлення чіткого зв'язку між тяжкістю Covid-19 і значеннями ПЧ і АЧТЧ [22].

1.3.5 D-димери

Класифікації хворобливих станів Covid-19 описують три фази: ранню інфекційну стадію, легеневу фазу та фазу гіперзапалення. На останніх двох стадіях спостерігається підвищення маркерів запалення, що спостерігається приблизно через 7–15 днів від початку захворювання. Крім маркерів запалення, при інфікуванні Covid-19 також було виявлено підвищення параметрів коагуляції, таких як фібриноген, D-димер і фактор фон Віллебранда. З них D-димер є найчастішою аномалією параметрів згортання крові при інфікуванні Covid-19. Пряма ендотеліальна взаємодія вірусу та подальша запальна реакція, ймовірно, пояснюють збільшення D-димеру, яке спостерігається у пацієнтів з інфекцією Covid-19. Ступінь підвищення D-димеру під час госпіталізації не тільки є найбільш значущим і найчастішим порушенням параметрів згортання крові, але й може спрогнозувати важкі наслідки інфекції Covid-19 [23].

Хоча про коагулопатію Covid-19 ще потрібно багато чого дізнатися, нещодавні дослідження *in vitro* показують, що спайковий білок Covid-19 сам по собі сприяє розвитку коагулопатії, яка спостерігається при Covid-19. Ці дослідження продемонстрували, що додавання спайкового білка викликало зміни в цільній крові з гіперактивацією тромбоцитів, спонтанним утворенням фібринової мережі та утворенням тромбів. Крім того, дослідження мас-спектрометрії показали, що спайковий білок може викликати структурні зміни β - і γ -фібрину (огену) і протромбіну.

Хоча спочатку вважалося, що коагулопатія, спричинена Covid-19, дуже нагадує ДВЗ-синдром, тепер вважається клінічною формою, відмінною від ДВЗ-синдрому, і інші запропонували стадії: перші дві стадії характеризуються підвищеним вмістом D-димеру та фібриногену та протромботичним станом, тоді як остання стадія, особливо у пацієнтів з критичним захворюванням і тромботичними проявами, що прогресують до більш класичної споживацької коагулопатії, яка спостерігається при ДВЗ-синдромі. 18 Нещодавні дослідження також продемонстрували, що підвищення D-димеру зберігається після гострої фази, причому у частки пацієнтів рівень D-димеру підвищується через 6 тижнів після первинного діагнозу Covid-19. 19

Суттєво збільшена концентрація D-димеру на момент поступлення у лікарню може вказувати на підвищений ризик смерті хворого на Covid-19.

Наростання концентрації D-димеру в плазмі крові під час госпіталізації може передвіщати появу гострого дисемінованого внутрішньосудинного згортання та поліорганної недостатності.

1.3.6 Розчинні комплекси мономерного фібрину

Вимірювання концентрації D-димеру в сироватці крові рекомендується як скринінговий тест на ВТЕ для пацієнтів з низьким ризиком. При Covid-19 рівень D-димеру в сироватці крові був корисним для діагностики ВТЕ, а підвищення рівня D-димеру пов'язане з поганим прогнозом. Однак рівні D-димеру можуть бути підвищені навіть за відсутності ВТЕ у пацієнтів зі злоякісними пухлинами, інфекціями, серцево-судинними захворюваннями, післяопераційними станами, травмами, вагітністю та літнім віком. Таким чином, у пацієнтів із Covid-19 підвищений рівень D-димеру може свідчити не лише про наявність ВТЕ, але й про вплив самої Covid-19, а також її ускладнень на загальний стан пацієнта. Тому в літературі обговорюється можливість використання рівнів Розчинних комплексів мономерного фібрину (РКМФ) як показник важкого прогресування Covid-19. Рівні РКМФ були значно вищими у пацієнтів із тяжким

прогресуванням захворювання, ніж у пацієнтів без важкого прогресування. Крім того, пацієнти з помірним ступенем тяжкості II, як правило, мали вищі рівні D-димеру РКМФ, ніж пацієнти з легким/помірним ступенем тяжкості I. У випадках з РКМФ вище референтного діапазону 66,6% пацієнтів мали важке прогресування, тоді як 41,1% пацієнтів із помітно підвищеним рівнем D-димеру мали тяжке прогресування. Таким чином, на думку авторів [24], рівні FMC можуть бути більш корисним предиктором прогнозу, ніж рівні D-димеру.

Концентрація РКМФ в основному описується як відображення активності протромбіну, тому їх було запропоновано як діагностичний маркер ДВЗ-синдрому і предиктор тромбозу та/або стану гіперкоагуляції раніше, ніж D-димер.

У здорових людей рівні РКМФ дуже низькі в периферичній крові, як правило, нижче межі виявлення. Кількість РКМФ збільшується при розширенні або розшаруванні пулу фібриногену і погіршенні нормальної полімеризації фібрин-мономерів, в результаті якої утворюються макромолекулярні розчинні комплекси з фібриногеном [24].

1.4 Зміни фібринолітичної системи та антикоагуляції в ході зараження SARS-CoV-2

Коагуляційний каскад складається з серії реакцій, які завершуються утворенням фібринового згустку, що сприяє запобіганню кровотечі в ураженні судин. Утворення фібрину залежить від дії тромбіну, який розщеплює фібриноген, вивільняючи фібринопептиди А і В, щоб утворити мономери фібрину, які полімеризуються, утворюючи нерозчинну сітку фібрину. Крім цього, тромбін активує FXIII, який потім з'єднує фібрини фібрину через залишки лізину, сприяючи більшій стабільності згустку. Тромбін утворюється з його неактивного попередника – протромбіну – під дією FXa [1].

Можна дидактично розділити каскад коагуляції на два окремі шляхи, які призводять до активації FX: зовнішній і внутрішній шляхи. Зовнішній шлях

починається, коли ураження кровоносної судини відкриває тканинний фактор, який складається з клітин, таких як фібробласти, і цей контакт із внутрішньосудинним середовищем разом із FVIIa активує FX. Через внутрішній шлях контакт крові з негативними поверхнями призводить до активації FXII (контактна активація), що запускає каскад, який призводить до активації FX.

Активація FXII до FXIIa шляхом контакту з негативно зарядженими поверхнями також запускає контактну систему. Контактна система є частиною вродженої імунної системи та механізму запальної реакції проти патогенів. Фактор XII, прекалікреїн і високомолекулярний кініноген беруть участь у коагуляційному каскаді, а також у контактній системі, відіграючи ключову роль в останній. Ця система може бути активована ДНК, РНК, позаклітинними пастками нейтрофілів і навіть активованими тромбоцитами. Крім того, як еукаріотична, так і прокаріотична РНК служать активаторами FXII і FXI, що призводить до активації контактної системи та індукування імунотромбозу [26].

Калікреїн-кінінова система також включена в механізми підтримки гемостазу. Хоча контактна система та калікреїн-кінінова система перетинаються, активація обох має різні наслідки. Активація калікреїн-кінінової системи призводить до вивільнення брадикініну (БК), вазоактивного пептиду, який відіграє ключову роль у запаленні. Після зв'язування з рецептором брадикініну 2, який активує сигнальний шлях, що призводить до болю, лихоманки, набряку, гіпотензії, розширення судин і підвищення проникності судин. Важливо зазначити, що брадикінін також стимулює вироблення IL-1, TNF-альфа та активних речовин кисню, які, у свою чергу, викликають руйнування ендотелію [27].

Інфекція SARS-CoV-2 викликає порушення згортання крові та, у важких випадках, може спровокувати дисеміноване внутрішньосудинне згортання крові (ДВЗ) і тромботичні події, особливо в мікроциркуляторному руслі легенів, що сприяє розвитку дисфункції цього органу. Механізми, які призводять до цього клінічного прояву, до кінця не вивчені, але ймовірно, що інтенсивне вивільнення прозапальних цитокінів сприяє запуску активації коагуляційного каскаду. У

цьому сенсі спостерігається значне вивільнення IL-1, IL-6 і TNF-альфа під час цитокінового шторму, викликаного інфекцією SARS-CoV-2 [29]. IL-6 відіграє особливо добре описану роль у сприянні активації коагуляції шляхом сприяння синтезу фібриногену, FVIII і тканинного фактора (TF). Крім того, інфекція SARS-CoV-2 зменшує кількість ангіотензинперетворювального ферменту, що призводить до підвищення рівня ангіотензину II. Підвищення рівня ангіотензину II сприяє активації коагуляції та пригніченню фібринолітичної системи, що сприяє протромботичному стану при Covid-19 (рис. 1.3) [28].

Спочатку інфекція, спричинена SARS-CoV-2, проявляється лихоманкою, м'язовою слабкістю, кашлем та задишкою, рідше головним болем, діареєю, нудотою та блюванням, а також порушеннями смаку і нюху. Вірус поширюється гематогенно і локалізується головним чином у легенях, шлунково-кишковому тракті та серці - органах, клітини яких містять ангіотензинперетворюючий фермент 2, який також є рецептором для SARS-CoV-2 [25].

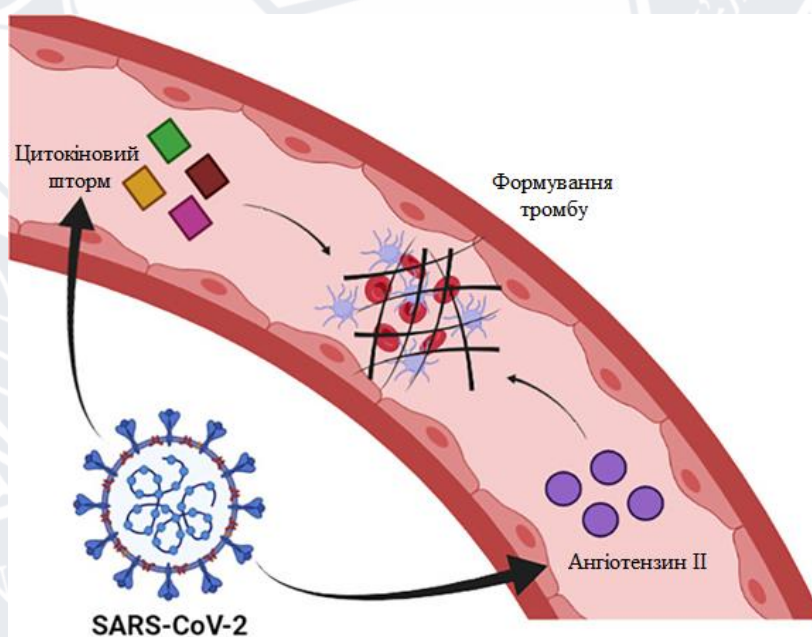


Рис. 1.3. SARS-CoV-2 індукує утворення цитокінового шторму та підвищення рівня ангіотензину II. Такі зміни сприяють активації каскаду коагуляції і, як наслідок, утворенню тромбу [28].

Перебіг інфекції в легенях має найбільше значення для подальшої долі пацієнта. Залучення альвеол викликає локальну запальну реакцію, яка супроводжується вивільненням великої кількості прозапальних цитокінів (у тому числі інтерлейкіну 6, інтерлейкіну 1, фактора некрозу пухлин α , інтерферону γ , фактора росту колонії гранулоцитів) та активацією і накопиченням моноклеарних клітин та нейтрофілів, що призводить до розширення зони пошкодження зокрема на ендотеліоцити дрібних кровоносних судин легень, які втрачають свої природні антикоагулянтні властивості. Крім того, аутопсійні дослідження додатково виявили посилення апоптозу ендотеліоцитів та моноклеарних клітин [25].

Окрім прозапальних цитокінів, які індукують експресію тканинного фактора на моноклеарних клітинах крові та ендотеліоцитах, до найважливіших протромботичних факторів триваючого в легенях патологічного процесу належать: нейтрофільні позаклітинні пастки, що активують контактні фактори; поліфосфати, що походять з мікроорганізмів, які мають здатність активувати тромбоцити, тучні клітини та фактор XII; компоненти системи комплементу та асоційовані з пошкодженням молекулярні патерни. Тромбоз у легеневій мікроциркуляції призводить до посилення дихальної недостатності. Аутопсійні дослідження виявили депонування фібрину як всередині кровоносних судин, так і в периваскулярному просторі. Дослідники також виділили спазм дрібних легневих судин як додатковий фактор, що порушує перфузію легеневої тканини.⁴ У найгіршому випадку запальні та тромботичні зміни охоплюють все більші ділянки легень, трансформуються у проліферативні зміни, які на кінцевій стадії стають фіброзними та призводять до смерті хворого[25].

Швидкість розвитку інфекції та швидкість реакції організму на інфекцію досить швидкі; медіана часу від перших симптомів інфекції до госпіталізації становить 7 днів, до появи задишки — 8 днів, до розвитку інтерстиціальних запальних змін — 9 днів, до розвитку ГРДС, що потребує лікування у ВІТ — 10,5 днів, до виписки з лікарні або смерті — 22 дні.

Описані раніше відхилення в результатах лабораторних досліджень системи гемостазу у хворих із тяжким перебігом зараження SARS-CoV-2 свідчать про активацію системи згортання, що відповідає SIC або ДВЗ. І все ж, гемостатичні розлади при Covid-19 виявляють ознаки, що відрізняють їх від ДВЗ в ході сепсису. По-перше, порівнюючи з хворими на Covid-19, тромбоцитопенія та гіпофібриногенемія у хворих на ДВЗ на фоні сепсису є більш вираженими, а збільшення концентрації D-димеру є нижчим. По-друге, у хворих на Covid-19 із відповідністю критеріям діагнозу гострого ДВЗ за ISTH практично відсутні геморагічні ускладнення, які часто зустрічаються при інших формах гострого ДВЗ, включаючи ДВЗ на фоні сепсису.

У деяких пацієнтів, які померли від інфекції, спричиненої SARS-CoV-2, при аутопсійних дослідженнях виявлено наявність тромбів у великих судинах легенів та тромби, багаті тромбоцитами, в мікроциркуляції легенів та інших органів. Ця остання знахідка викликала підозру на тромботичну мікроангіопатію (ТМА). Більше того, у крові хворих, інфікованих SARS-CoV-2, нерідко виявляють підвищену активність лактатдегідрогенази та підвищену концентрацію феритину, які також характерні для ТМА. Проте, оскільки в мікроскопії мазка периферичної крові у хворих на Covid-19 відсутні шизоцити, а тромбоцитопенія в ході зараження SARS-CoV-2 значно нижча, ніж при тромботичній тромбоцитопенічній пурпурі та атиповому гемолітично-уремічному синдромі, концепцію наявності ТМА в ході Covid-19 слід радше відкинути (хоча слід зазначити, що в даний час у літературі немає даних про концентрацію металопротеїнази у хворих на Covid-19) [25].

Фібринолітична система є важливим захистом від внутрішньосудинного тромбозу, і є вагомими докази того, що дисбаланс цієї системи бере участь у патофізіології серцево-судинних ішемічних подій та ендотеліальної дисфункції. Дисбаланс спричинений, принаймні частково, невідповідною активністю ренін-ангіотензинової системи, яка взаємодіє з фібринолітичною системою на рівні ендотелію [1].

Хоча утворення фібринової мережі має важливе значення для запобігання витоку крові, необхідна система для запобігання її необмеженого утворення, яке може закупорити судини. Ця функція головним чином виконується фібринолітичною системою, основним компонентом якої є плазмін, серинова протеаза, яка розкладає фібрин, утворюючи розчинні продукти розпаду фібрину.

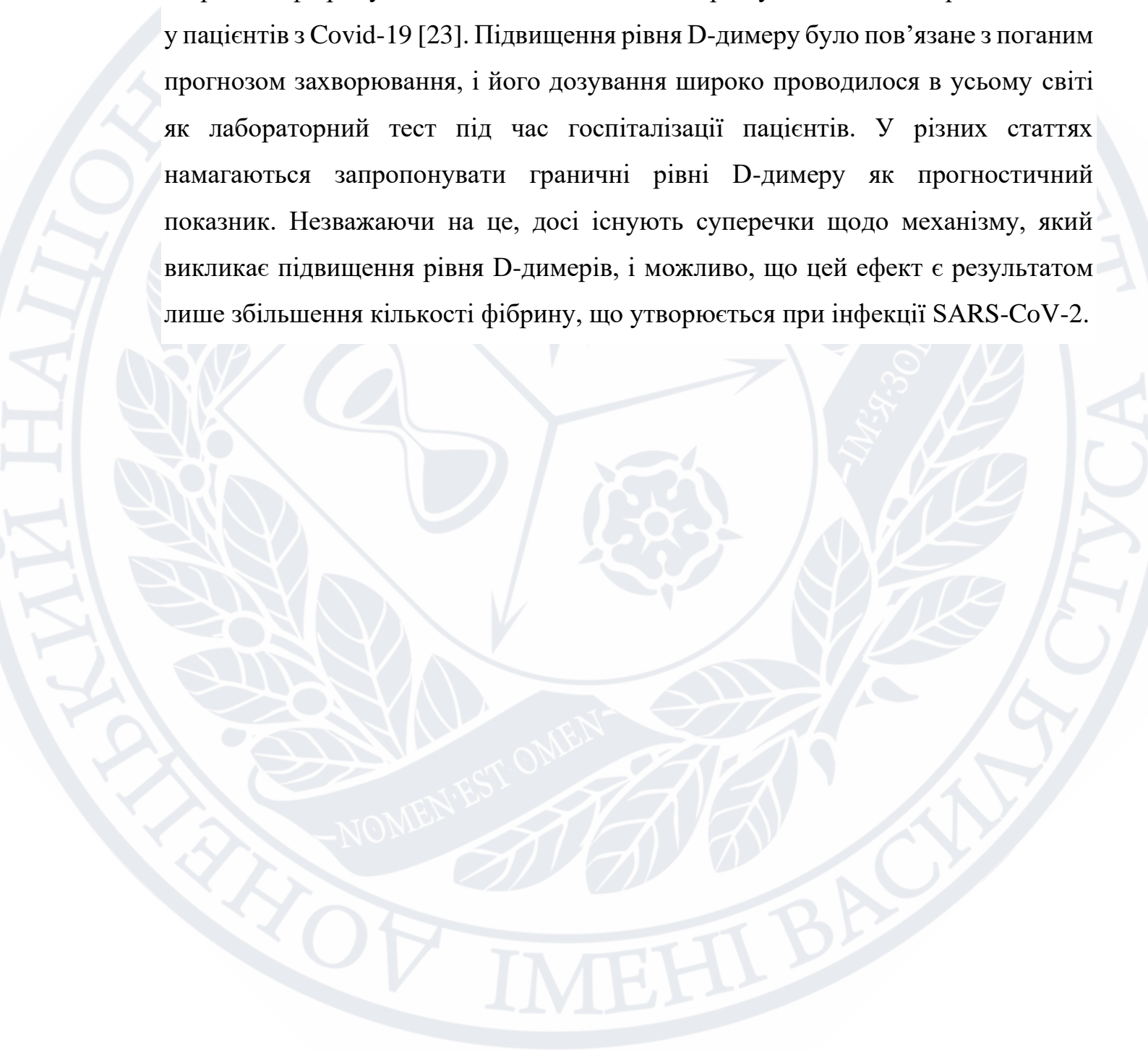
Плазмін утворюється з його неактивного попередника, плазміногену, який може бути активований тканинним або урокіназним активатором плазміногену. Після початку фібриноліз прискорюється за допомогою механізму позитивного зворотного зв'язку. Ці активатори можуть інгібуватися PAI-1, тоді як плазмін може бути безпосередньо інгібований альфа2-антиплазміном. Ендотеліальні клітини та гладком'язові клітини судин є основним джерелом активаторів плазміногену, які локально контролюють фібриноліз [30].

Каскад коагуляції все ще можна пригнічувати, щоб уникнути його надмірної активації. Найбільш важливими інгібіторами коагуляції є інгібітор протеази тканинного фактора, протеїн S, тромбомодулін, протеїн C і антитромбін. Механізми дії цих інгібіторів різноманітні. Наприклад, антитромбін безпосередньо інгібує тромбін, чому сприяє присутність гепарину або гепарансульфату, тоді як TFPI, що виробляється ендотеліальними клітинами, інгібує як комплекс тканинний фактор/FVIIa, так і FXa. Крім того, інгібітор C1-естерази (C1-INH), природний регулятор комплементу, калікреїн-кініну, контактної та фібринолітичної системи, досліджується для лікування Covid-19, націлений на численні системи, залучені до захворювання [30].

У важкохворих пацієнтів з Covid-19 дослідження продемонстрували зниження природних антикоагулянтних систем із зниженням концентрації антитромбіну та протеїну C у сироватці крові, що може сприяти стану гіперкоагуляції, який характеризує патофізіологію SARS-CoV-2. Відомо, що природна коагуляція плазми знижується у пацієнтів із сепсисом або ДВЗ-синдромом, а також пов'язана з тяжкістю захворювання [6]. Крім того, спостерігався гіпофібринолітичний стан, що відображає зміни у фібринолітичній системі з підвищенням концентрації TFPI. Як наслідок, утворення тромбів стає

легшим, головним чином у мікроциркуляторному руслі легенів. Необхідні додаткові дослідження для оцінки інших параметрів природного згортання, щоб визначити важливість цих змін для загальної картини захворювання Covid-19.

При Covid-19 також спостерігається, особливо у більш важких випадках, збільшення концентрації D-димерів, молекул, що утворюються внаслідок деградації фібрину. Помітно підвищені D-димери були виявлені на ранній стадії у пацієнтів з Covid-19 [23]. Підвищення рівня D-димеру було пов'язане з поганим прогнозом захворювання, і його дозування широко проводилося в усьому світі як лабораторний тест під час госпіталізації пацієнтів. У різних статтях намагаються запропонувати граничні рівні D-димеру як прогностичний показник. Незважаючи на це, досі існують суперечки щодо механізму, який викликає підвищення рівня D-димерів, і можливо, що цей ефект є результатом лише збільшення кількості фібрину, що утворюється при інфекції SARS-CoV-2.



РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджено показники системи згортання крові 463 пацієнтів КНП "КМКЛ №18" із підтвердженим діагнозом Covid-19 за період 2019-2021 р. , які були поділені на 2 категорії: перша група – пацієнти, які проходили лікування в умовах стаціонару; друга група – хворі, що знаходились на амбулаторному лікуванні.

Результати дослідження системи зсідання крові представлені за класичною схемою «каскадної» білково-орієнтованої моделі, яка є традиційною для інтерпретації базових коагуляційних тестів, де штучно відтворені умови активації фактора X і утворення протромбіназного комплексу за зовнішнім (протромбіновий час та міжнародне нормалізоване відношення) або внутрішнім контактним (активованій частковий тромбопластиновий час) шляхом.

Статистичне опрацювання результатів дослідження здійснено за допомогою у програмному середовищі R, стандартними методами варіаційної статистики. Описова статистика кількісних ознак представлена у вигляді середнього значення та стандартного відхилення ($M \pm \delta$); мінімального і максимального значення.

Для перевірки відповідності вибірок даних нормальному закону розподілу проводився їх аналіз методом Шапіро-Уїлки, крім того оцінювали асиметрію і ексцес. Результати перевірки відповідності нормальному закону розподілу вибірок - пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid, що лікувались в умовах стаціонару (ТЕР) і хворих, що знаходились на амбулаторному лікуванні (АМБ), наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 - Результати перевірки параметрів гемостазу на відповідність нормальному розподілу за критерієм Шапіро-Уїлки

Показники гемостазу	Рівень значимості	
	ТЕР	АМБ
Тромбоцити	0,76	0,02
Середній обсяг тромбоцитів	0,41	0,47

Показники гемостазу	Рівень значимості	
	ТЕР	АМБ
Ширина розподілу тромбоцитів	1,03E-03	2,18E-03
Протромбіновий час	0,54	2,86E-04
Протромбіновий індекс	0,81	3,09E-04
МНВ	7,24E-07	2,3E-03
Тромботест	0,14	7,7E-05
АЧГЧ	5,45E-05	8,34E-08
Фібриноген плазми	0,12	3,1E-05

У більшості випадків досліджувані вибірки параметрів гемостазу не мали нормального розподілу відповідно до тесту Шапіро–Вілکا, тому для порівняння кількох груп ми використовували непараметричні методи, а саме ранговий критерій Манна–Уїтні

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРЕМЕНТУ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В роботі проводили комплексне дослідження гемостазу, яке дозволяє оцінити стан різних ланок системи згортання, антизгортуючої і фібринолітичної систем крові. Коагулограма включала кілька найважливіших показників системи гемостазу – кількість, обсяг та ширину розподілу тромбоцитів, ТЧ, АЧТЧ, МНО, концентрація фібриногену, наявність РКМФ.

У таблиці 3.1 наведено результати статистичної обробки показників гемостазу в двох групах пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19: тих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі (ТЕР), та хворих, які знаходились на амбулаторному лікуванні (АМБ) у вигляді середнього значення та стандартного відхилення ($M \pm \delta$);.

Таблиця 3.1 - Описова статистика для показників гемостазу

Показники гемостазу	Середні значення ($M \pm \delta$)	
	ТЕР	АМБ
Тромбоцити	224 \pm 63	240 \pm 80
Середній обсяг тромбоцитів	11,69 \pm 0,7	11,72 \pm 0,69
Ширина розподілу тромбоцитів	21,2 \pm 80,4	16,6 \pm 2,1
Протромбіновий час	18,47 \pm 5,7	17,47 \pm 4,0
Протромбіновий індекс	88,2 \pm 12,3	86,1 \pm 17,8
МНВ	1,56 \pm 0,38	1,68 \pm 0,37
Тромботест	16,2 \pm 4,0	16,2 \pm 4,0
АЧТЧ	38,7 \pm 7,6	37,5 \pm 8,7
Фібриноген плазми	4058 \pm 1167,8	3888 \pm 885

Відмінності у показниках двох груп пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19 – тих, що знаходились в умовах стаціонару та таких, що проходили лікування амбулаторно, визначали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Результати розрахунків наведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 - Порівняння груп пацієнтів, хворих на Covid-19

Показники гемостазу	Тест Манна-Уїтні
Тромбоцити	0,051
Середній обсяг тромбоцитів	0,637
Ширина розподілу тромбоцитів	0,080
Протромбіновий час	0,041
Протромбіновий індекс	0,671
МНВ	0,887
Тромботест	0,866
АЧТЧ	0,508
Фібриноген плазми	0,800

Відомо, що морфологічні та біохімічні зміни тромбоцитів мають відношення до патофізіології Covid-19. Існують докази того, що багато шляхів активації тромбоцитів активізуються після зараження SARS-CoV-2 або непрямим шляхом через дію запальних цитокінів і пошкодження ендотелію, або безпосередньо через вірусну інфекцію. Крім того, було продемонстровано, що SARS-CoV-2 здатний інфікувати та розмножуватися в мегакаріюцитах у кістковому мозку та легенях. Досі невідомо, чи виробляють ці мегакаріюцити тромбоцити, що несуть віріони. Загалом цитокіновий шторм, утворення тромбіну, дисфункція ендотелію, активація комплементу (C3a), підвищення в'язкості та гіпоксія вважаються основними причинами активації та агрегації тромбоцитів, спричинених SARS-CoV-2 [31, 32].

В нашому дослідженні тромбоцитопенія, визначена як зменшення числа тромбоцитів $<100\ 000$ клітин/мкл, на момент поступлення в лікарню спостерігалась лише у 1% пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2. У 89 (19%) пацієнтів із Covid-19 число тромбоцитів було менше нижньої межі допустимого діапазону і складало $<180\ 000$ /мкл. З них 67 пацієнтів (14%) ті, що знаходились на лікуванні в стаціонарі. Загалом, середнє значення кількості тромбоцитів у хворих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі було незначно нижче, ніж у

пацієнтів, що лікувались амбулаторно – $(224 \pm 63) \cdot 10^9$ клітин/л і $(240 \pm 8) \cdot 10^9$ клітин/л відповідно (рис. 3.1). Слід зазначити, що у 60% пацієнтів кількість тромбоцитів знаходилась в межах допустимого діапазону $(180 \div 360) \cdot 10^9$ клітин/л

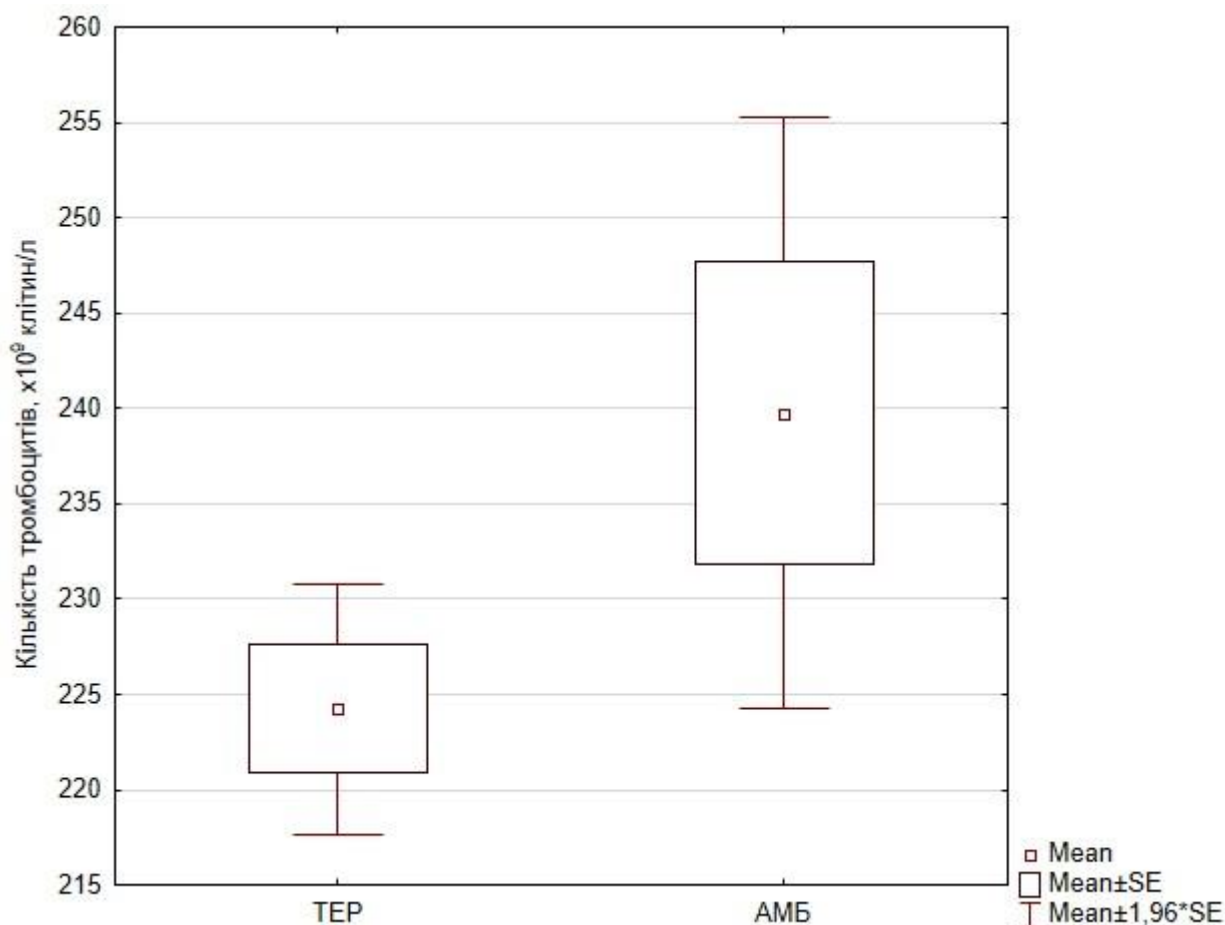


Рис. 3.1. Кількість тромбоцитів у пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19 – тих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі (ТЕР), і тих, що лікувались амбулаторно (АМБ)

Із літературних даних відомо, що середній обсяг тромбоцитів (MPV) також може мати прогностичний потенціал при Covid-19. В нашому дослідженні не було виявлено достовірної різниці між обсягом тромбоцитів двох груп пацієнтів ($p > 0.05$). MPV в межах норми спостерігалось лише у 13% пацієнтів; 82% хворих мають підвищений рівень обсягу тромбоцитів, з них 17% - хворі, що знаходились на амбулаторному лікуванні і 65% - ті, що знаходились в умовах стаціонару (рис. 3.2). Тенденція до збільшення середнього обсягу тромбоцитів під час SARS-CoV-2 відповідає даним літературних джерел.

Слід зазначити, що цей показник вимірювався тільки при госпіталізації, а не впродовж певного періоду після діагностики захворювання. Відомо, що зміна MPV на одну одиницю через кілька днів після початку хвороби може свідчити про збільшення ризику смерті в 1,7 рази [33]

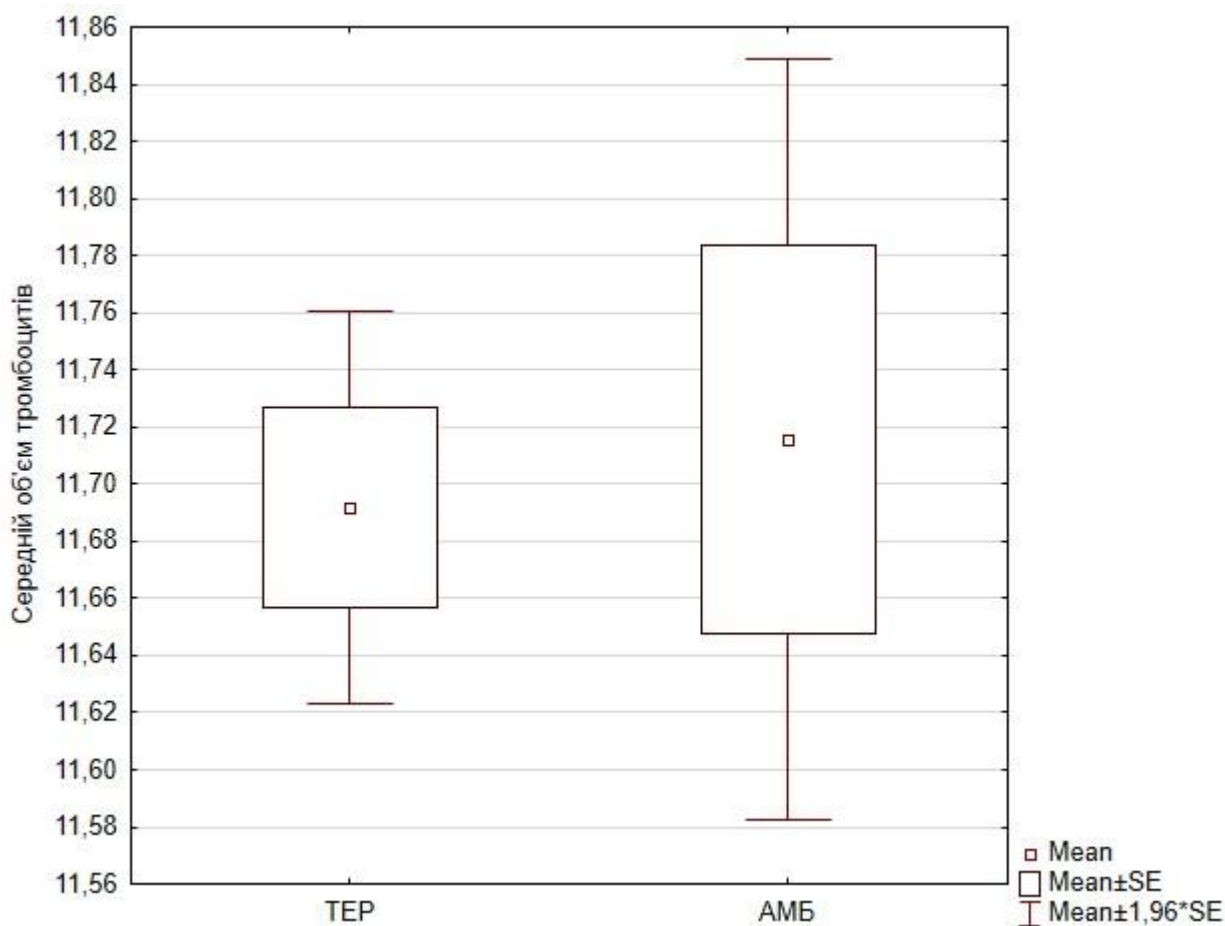


Рис. 3.2. Середній об'єм тромбоцитів в досліджуваних групах пацієнтів

Відповідно до загальновизнаного зв'язку між параметрами тромбоцитів і Covid-19, кілька останніх досліджень діагностичної та прогностичної цінності рутинних гемоцитометричних маркерів підкреслили клінічну корисність ширини розподілу тромбоцитів (PDW) при Covid-19, наголошуючи на роль цього показника для розрізнення та стратифікації ризику розвитку критичної хвороби та/або смерті. [34, 35].

В нашій роботі при аналізі лабораторних досліджень не було виявлено достовірної різниці в ширині розподілу тромбоцитів між групами досліджуваних

пацієнтів ($p>0.05$) (рис. 3.3). Значення ширини розподілу тромбоцитів знаходились в межах допустимого діапазону (10-20) у 88% хворих, і тільки у 7% незначно перевищувало верхнє референтне значення. У пацієнтів, що знаходились на амбулаторному лікуванні середнє значення PDW склало $16,6\pm 2,1$. Середнє значення PDW в групі хворих, що лікувались в умовах стаціонару склало $21,2\pm 80,4$, група була гетерогенною за шириною розподілу тромбоцитів – значення варіювали від 10,5 до 22,1.

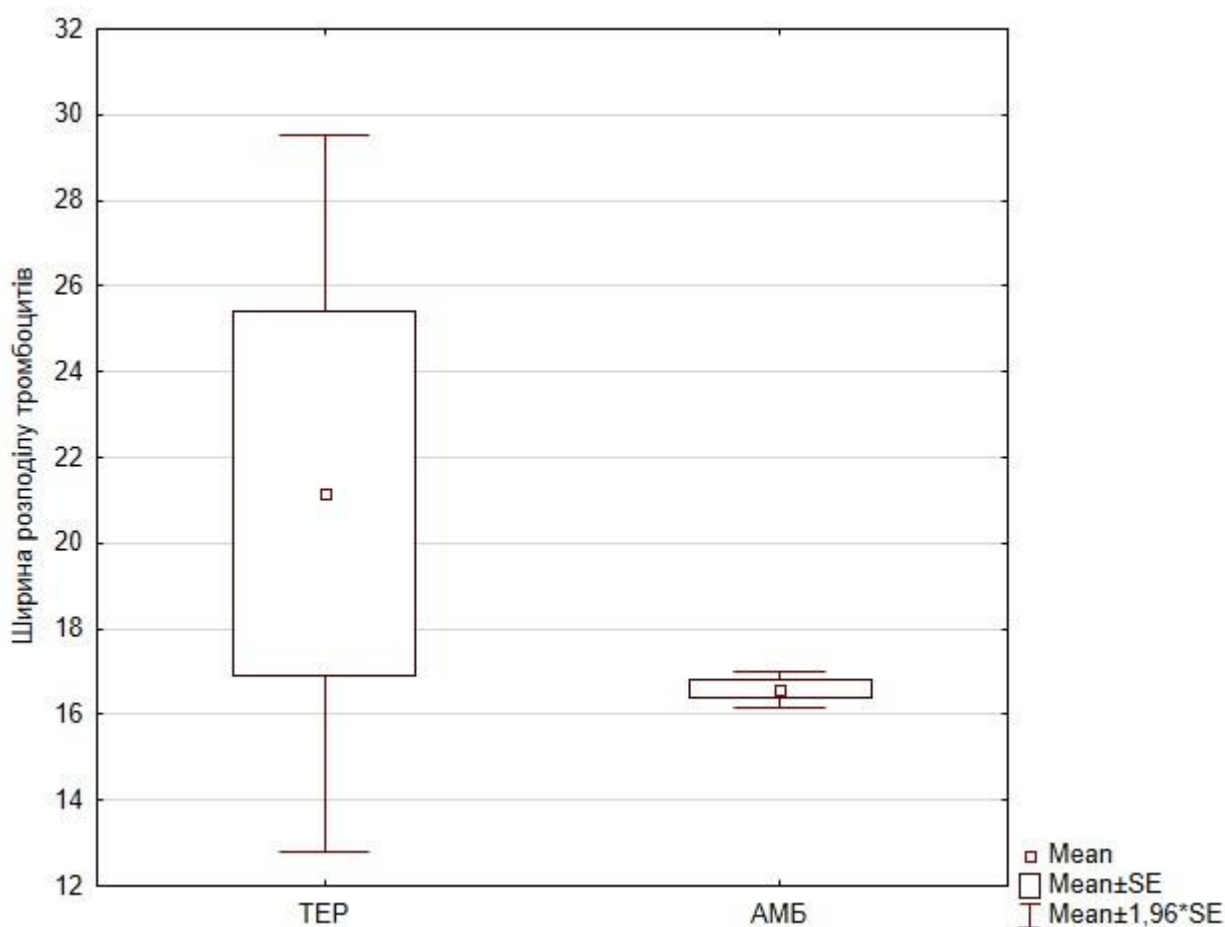


Рис. 3.3. Ширина розподілу тромбоцитів у пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19 – тих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі (ТЕП), і тих, що лікувались амбулаторно (АМБ)

Така гетерогенність обумовлена здатністю тромбоцитів деформуватися, ставати гігантськими, утворювати гомотипні та гетеротипні агрегати, що в кінцевому підсумку призводить до тромбоцитопенічного стану, викликаного руйнуванням або споживанням тромбоцитів, пов'язаним із вивільненням

менших і більших тромбоцитів з кісткового мозку, що загалом сприяє збільшенню значень PDW [36].

За даними літературних джерел коагуляційні тести, такі як активований частковий тромбопластиновий час і протромбіновий час, як правило, вищі у пацієнтів із симптомами Covid-19, ніж у здорових людей [31, 32].

В нашому дослідженні протромбіновий час був вищим у пацієнтів, які проходили лікування в умовах стаціонару ($18,47 \pm 5,7$), порівняно з хворими, які лікувались амбулаторно ($17,47 \pm 4,0$) (рис. 3.4). Слід зазначити, що це незначно перевищує норму – 17”.

У 62 (13%) пацієнтів був подовжений протромбіновий час, з них 46 (10%) і 16 (3%) стаціонарних і амбулаторних хворих відповідно.

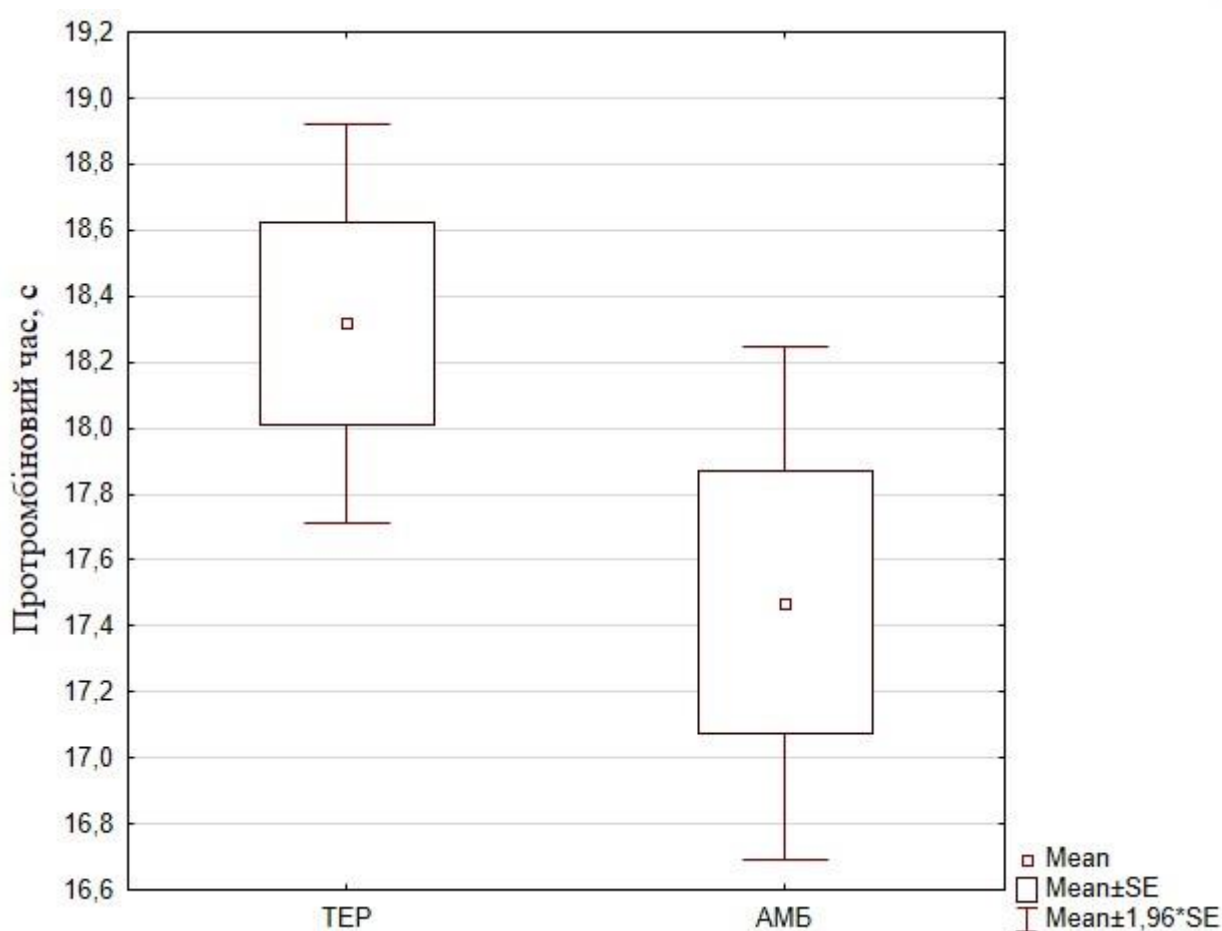


Рис. 3.4. Протромбіновий час у досліджуваних груп пацієнтів

Активований частковий тромбопластиновий час відображає функцію внутрішнього та загального шляхів згортання крові. Тривалість АЧТЧ залежить

від рівня високомолекулярного кініногену, прекалікреїну і факторів згортання XII, XI, VIII і менш чутливий при змінах рівнів факторів X, V, протромбіну і фібриногену

При порівнянні двох груп хворих не було виявлено статистично значущої різниці між значеннями АЧТЧ. Середні показники склали $38,7 \pm 7,6$ і у пацієнтів, що знаходились на лікуванні в умовах стаціонару і $37,5 \pm 8,7$ у тих, що знаходились на амбулаторному лікуванні (рис. 3.5). При цьому слід зазначити, що подовжений АЧТЧ мали 124 пацієнти (27%), з них 92 (20%) ті, що проходили лікування в умовах стаціонару і 32 (7%) - ті, що лікувались амбулаторно.

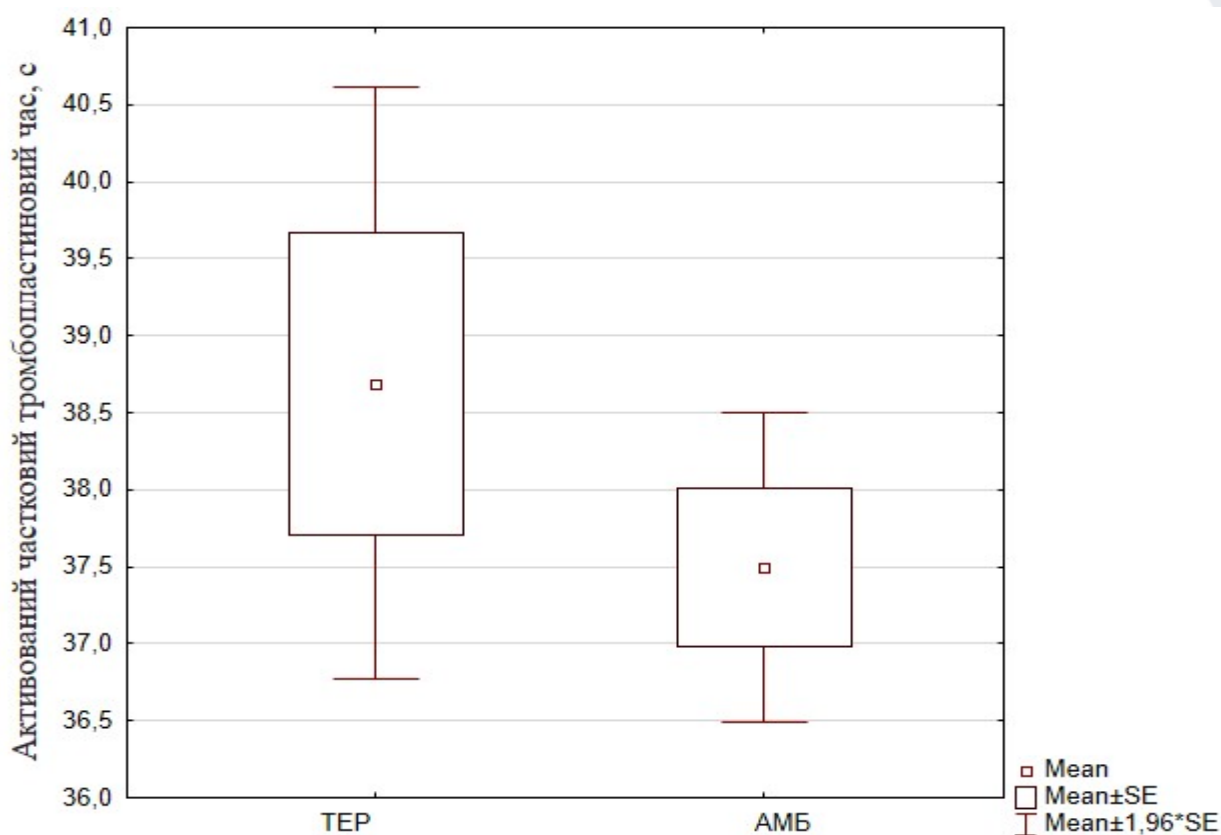


Рис. 3.5. Активований частковий тромбoplastиновий час у досліджуваних груп пацієнтів

Стан зовнішнього шляху згортання крові дозволяють оцінити показники гемостазу протромбіновий індекс (ПТІ) і міжнародне нормалізоване відношення (МНВ).

ПТІ розраховується як відношення стандартного протромбінового часу до часу згортання плазми пацієнта і виражається у відсотках.

МНВ – це стандартизований відповідно до міжнародних рекомендацій показник протромбінового тесту. Він обчислюється за формулою:

$$\text{МНВ} = \frac{\text{Протромбіновий час пацієнта}}{\text{Протромбіновий час контролю}} \cdot \text{МІЧ}$$

де МІЧ (міжнародний індекс чутливості) – коефіцієнт чутливості тромбoplastину щодо міжнародного стандарту.

МНВ і ПТІ обернено пропорційні показники - підвищення ПТІ відповідає зниженню МНВ у пацієнтів (рис. 3.6). В нашому дослідженні не було виявлено статистично значущої різниці між цими показниками у досліджуваних груп хворих, але середні значення ПТІ були вище у хворих, що знаходились на стаціонарному лікуванні.

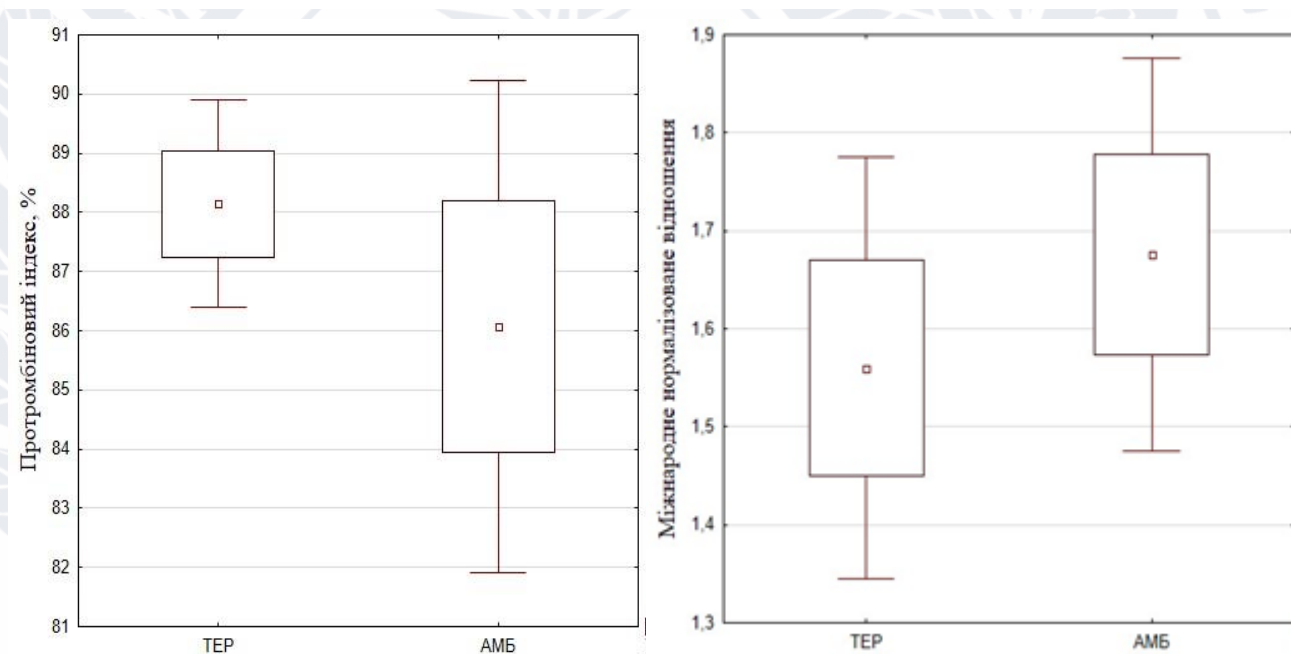


Рис. 3.6 Результати порівняння ПТ і МНВ в досліджуваних групах пацієнтів

Слід зазначити, що деякі дослідники застерігають від використання МНВ, оскільки при перерахунку незначні відмінності щодо тривалості ПТ стають непомітними після його перерахунку в МНВ.

Фібриноген – фактор згортання крові I, що виробляється в печінці. Завдяки дії коагуляційного каскаду і активних ферментів плазми він перетворюється в фібрин, який бере участь в утворенні кров'яного згустку і тромбу.

За рекомендацією експертів Міжнародного товариства з тромбозу та

гемостазу (ISTH) вимірювання концентрації фібриногену у пацієнтів з Covid-19 на момент поступлення в лікарню не є обов'язковим. Однак, враховуючи простоту виконання тесту, його широку доступність та корисність для подальшого моніторингу системи гемостазу під час госпіталізації, на думку багатьох авторів цей параметр слід враховувати при початковій оцінці системи гемостазу у госпіталізованих пацієнтів із Covid-19.

З літературних даних відомо, що середня концентрація фібриногену у людей, інфікованих SARS-CoV-2, зазвичай тримається близько верхньої межі норми (~ 4000 мг/л), що, швидше за все, пов'язано з триваючим запальним процесом в організмі.

В нашому дослідженні середні значення концентрації фібриногену в групі хворих, що лікувались в умовах стаціонару, були незначно вищі за норму ($2000\div 4000$ мг/л) і склали $4058\pm 1167,8$ мг/л. У хворих, що знаходились на амбулаторному лікуванні середні значення показника знаходились в межах норми - 3888 ± 885 (рис. 3.7).

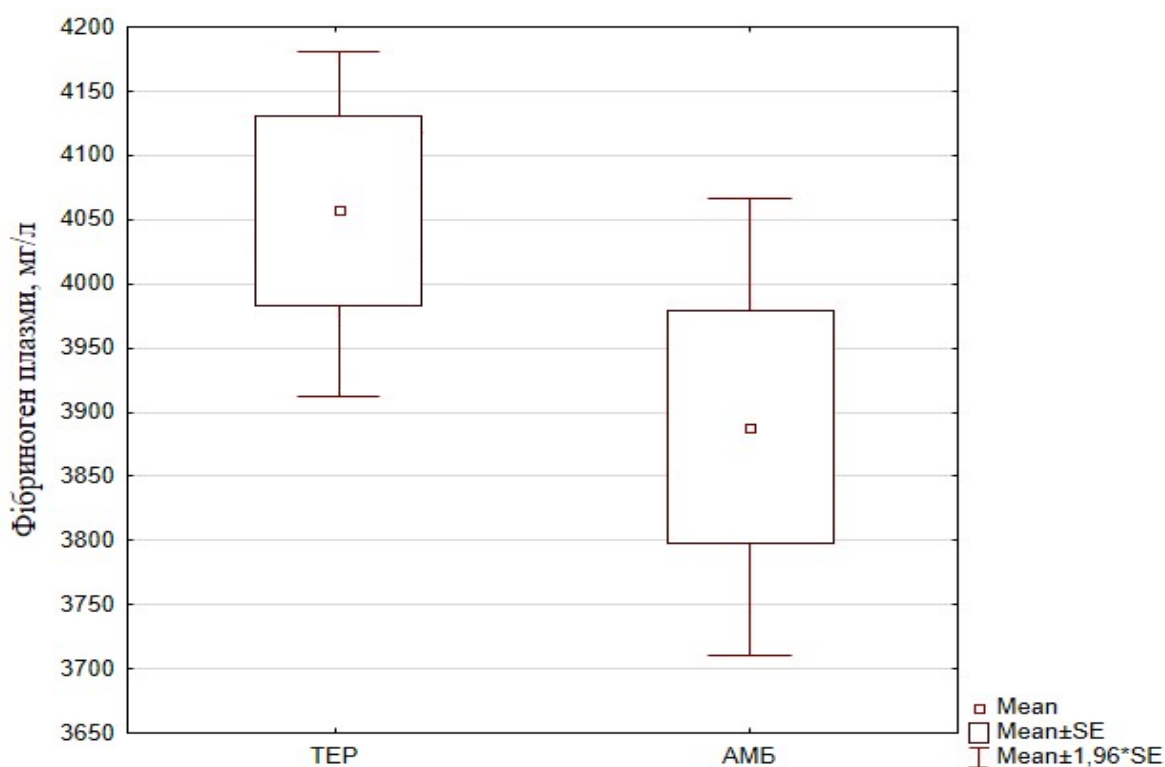


Рис. 3.7 Рівень фібриногену плазми у пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19 – тих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі (ТЕР), і тих, що лікувались амбулаторно (АМБ)

Розчинні комплекси мономеру фібрину (РКМФ) - це маркери, пов'язані з фібриногеном, які утворюються шляхом розщеплення тромбіном фібриногену з вивільненням фібринопептиду А. Хоча D-димер утворюється шляхом фібринолізу зшитого фібрину плазміном, наявність розчинних мономерів фібрину вказує на те, що тромбін перетворює фібриноген на фібрин. Мономери фібрину мають сильну тенденцію до полімеризації, і через цю тенденцію вони присутні фізіологічно лише в дуже низькій концентрації. Коли тромбін активує фібрин-стабілізуючий фактор згортання крові (фактор XIII) і зшиває мономери фібрину в полімери, невелика кількість мономеру фібрину може не включатися в згусток, а замість цього циркулює в плазмі з фібриногеном або продуктами розпаду фібриногену з утворенням розчинного мономерного комплексу фібрину. [8*]. В нормі у здорових людей кількість РКМФ завжди присутня в крові, але їх рівень настільки низький, що приймається як негативний.

Дослідження частоти виявлення РКМФ-позитиву серед пацієнтів, які були госпіталізовані з приводу Covid-19 виявили слабкопозитивний результат у 90 пацієнтів. З них 77 – хворі, що проходили лікування в умовах стаціонару і 13 – пацієнти, які лікувались амбулаторно. Позитивний (++) результат виявлений у 27 пацієнтів: 24 та 3 – стаціонарні та амбулаторні хворі відповідно. Різкопозитивний (+++) та надмірний (+++++) тест на РКМФ виявлений у 7 та 2 хворих, що лікувались в умовах стаціонару, відповідно. Результати аналізу на РКМФ представлено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Частота виявлення РКМФ-позитиву у пацієнтів, які знаходились на стаціонарному (ТЕР) та амбулаторному (АМБ) лікуванні

Наявність РКМФ		Кількість хворих		
		Всього	ТЕР	АМБ
Слабко позитивний	+	90	77	13
Позитивний	++	27	24	3
Різко позитивний	+++	7	7	0
Надмірний	++++	2	2	0
Згусток		1	1	0

Фібрин-мономерні комплекси є фібрин-пов'язаними маркерами внутрішньосудинного згортання крові, наявність яких свідчить про стан гіперкоагуляції перед утворенням тромбу. РКМФ з'являються раніше на початку тромбозу, ніж D-димер, який є продуктом розпаду тромбу [38].

Значення РКМФ можуть бути більш корисними, ніж D-димер, для виявлення аномалій коагуляції Covid-19. Крім того, мета-аналіз Covid-19 показав, що рівні D-димеру мають високу чутливість, але відносно низьку специфічність для діагностики ВТЕ. За даними літературних джерел [39] рівні РКМФ можуть мати вищу специфічність для ВТЕ, ніж рівні D-димеру, хоча необхідні перевірені дослідження щодо специфічності та чутливості цього маркера. РКМФ є маркером утворення тромбіну, тоді як D-димер є маркером фібринолізу. Рівні РКМФ підвищуються раніше, ніж рівні D-димеру на початку тромбозу. Оскільки періоди підвищення рівнів РКМФ і D-димеру становлять приблизно 1 день і 1-2 тижні відповідно, РКМФ може бути корисним для виявлення тромбозу в гострій фазі.

Підсумовуючи результати проведеного дослідження, слід припустити, що у відповідь на інфікування SARS-CoV-2 гемостатична система збільшує свій протромботичний потенціал завдяки механізмам, головним чином залежним від сильної запальної реакції - цитокинового шторму та ураження ендотелію, а можливо і пригнічення системи фібринолізу. Також не можна виключати прямого, специфічного впливу коронавірусу на окремі складові системи гемостазу, що призводить до збільшення тромбогенного потенціалу зараженого організму, хоча поки що немає вагомих даних, які б підтверджували таку гіпотезу. Лабораторна картина параметрів гемостазу у хворих на Covid-19 нагадує ДВЗ, але на думку авторів [40], з урахуванням розташування тромбів переважно в легеневій мікроциркуляції, застосування терміну "легенева інтраваскулярна коагулопатія" було б більш відповідним. У той же час не можна не враховувати того, що при аутопсійних дослідженнях у хворих на Covid-19 виявляли тромби також поза легеневим кровообігом, зокрема в нирках. Важливою і відмінною від SIC і ДВЗ особливістю коагулопатії, асоційованої з

SARS-CoV-2, є те, що практично не спостерігається геморагічний діатез. Щоб підкреслити відмінність порушень згортання крові у людей, інфікованих SARS-CoV-2, від інших коагулопатій, експерти запропонували термін "Covid-19-асоційована коагулопатія" (САС), для якої характерні наступні зміни лабораторних показників гемостазу:

- підвищена концентрація D-димеру та РКМФ;
- початково підвищена концентрація фібриногену, яка може знизитися у разі прогресування Covid-19;
- мінімальне подовження ПЧ і АЧТЧ;
- початково нормальне число тромбоцитів або незначна тромбоцитопенія, яка може посилитися у разі прогресування Covid-19.

Коагулопатія наростає враз із тяжкістю клінічного перебігу Covid-19.

ВИСНОВКИ

1. Клінічні прояви Covid-19 нерозривно пов'язані з порушеннями гемостазу, активації каскаду коагуляції та пригніченню фібринолітичної системи. Детальне дослідження клінічних показників може сприяти не тільки кращому розумінню патофізіологічних механізмів Covid-19, а й вказати нові напрямки можливого лікування інфекції SARS-CoV-2 та кращого моніторингу госпіталізованих пацієнтів.

2. Проведений аналіз показників системи згортання крові показав статистично значуще зниження кількості тромбоцитів у хворих, що знаходились на лікуванні в стаціонарі порівняно з пацієнтами, що лікувались амбулаторно; збільшення активованого часткового тромбопластинового часу і протромбінового часу.

3. В нашому дослідженні не було виявлено достовірної різниці між обсягом тромбоцитів двох груп пацієнтів ($p > 0.05$), хоча 82% хворих мали підвищений рівень обсягу тромбоцитів. Значення ширини розподілу тромбоцитів знаходились в межах допустимого референтного діапазону і не відрізнялись статистично у групах хворих, що лікувались в стаціонарі і амбулаторно.

4. Середнє значення концентрації фібриногену в групі хворих, що лікувались в умовах стаціонару, були незначно вищі за норму, у той час як у хворих, що знаходились на амбулаторному лікуванні середнє значення трималось близько верхньої межі норми, що пов'язано з триваючим запальним процесом в організмі.

5. Підвищений рівень розчинних комплексів мономерного фібрину, що є маркером утворення тромбіну і може бути корисним для діагностики тромбозу в гострій фазі, було виявлено у 27% пацієнтів з підтвердженим діагнозом Covid-19.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. De Andrade S.A., de Souza D.A., Torres A.L., de Lima C.F. Pathophysiology of Covid-19: Critical Role of Hemostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022. V.12. 9 p. doi: 10.3389/fcimb.2022.896972.
2. Lu H., Stratton C.W., Tang Y.W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020. V.92(4). P. 401-402. doi: 10.1002/jmv.25678
3. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China 2019. *N Engl J Med.* 2020. V. 20. P. 727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017
4. Cao Y., Liu X., Xiong L., Cai K. Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2020. V. 92(9). P. 1449-1459. doi: 10.1002/jmv.25822.
5. Windyga J.: Covid-19 a zaburzenia hemostazy. *Med. Prakt..* 2020. V. 7-8. P. 59–68.
6. Zhang Y., Zeng X., Jiao Y., Li Z., Liu Q., Ye J. et al. Mechanisms Involved in the Development of Thrombocytopenia in Patients With Covid-19. *Thromb. Res.* V. 193. 2020. P. 110–115. doi: <https://doi.org/10.1016%2Fj.thromres.2020.06.008>
7. Стасишин О.В. Сучасний погляд на функцію системи гемостазу. *Укр. мед. часопис.* 2020. № 6(140), Т.1. С.1-3. [Ел. ресурс: www.umj.com.ua/uk/publikatsia-194994-suchasnij-poglyad-na-funktsiyu-sistemi-gemostazu
8. Ferreira C.N., Sousa M.O., Dusse L.M.S. et al. A cell-based model of coagulation and its implications. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2010. V.32. № 5. P. 416-421. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010000500016>
9. Hoffman M., Monroe D.M. A cell-based model of hemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001. V 85(6). P. 958–965. doi: 10.1055/s-0037-1615947
10. Jiang S. Q., Huang Q. F., Xie W. M., Lv C., Quan X. Q. The Association Between Severe Covid-19 and Low Platelet Count: Evidence From Observational Studies

- Involving 7613 Participants. *Br. J. Haematol.* 2020. V 190 (1). P. 29–33. doi: 10.1111/bjh.16817
11. Delshad M., Safaroghli-Azar A., Pourbagheri-Sigaroodi A., Poopak B. Platelets in the perspective of Covid-19; pathophysiology of thrombocytopenia and its implication as prognostic and therapeutic opportunity. *Int Immunopharmacol.* 2021. P. 107995. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107995.
 12. Iba T., Levy J.H., Connors J.M., Warkentin T.E. The unique characteristics of Covid-19 coagulopathy. *Crit Care.* 2020. V. 24(1). P. 360. doi: 10.1186/s13054-020-03077-0.
 13. Yang X., Yang Q., Wang Y., Wu Y. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost.* 2020. V. 18(6). P. 1469-1472. doi: 10.1111/jth.14848.
 14. Bashash D., Hosseini-Baharanchi F.S., Rezaie-Tavirani M., Safa M. The Prognostic Value of Thrombocytopenia in Covid-19 Patients; a Systematic Review and Meta-Analysis. *Arch Acad Emerg Med.* 2020. V.8(1). P. 75.
 15. Zhao X., Wang K., Zuo P., Liu Y. Early decrease in blood platelet count is associated with poor prognosis in Covid-19 patients-indications for predictive, preventive, and personalized medical approach. *EPMA J.* 2020. V. 11(2). P. 139-145. doi: 10.1007/s13167-020-00208-z.
 16. Zhu Y., Zhang J., Li Y., Liu F. Association between thrombocytopenia and 180-day prognosis of Covid-19 patients in intensive care units: A two-center observational study. *PLoS One.* 2021/ V. 16(3). doi: 10.1371/journal.pone.0248671.
 17. Bao C., Tao X., Cui W., Yi B. SARS-CoV-2 induced thrombocytopenia as an important biomarker significantly correlated with abnormal coagulation function, increased intravascular blood clot risk and mortality in Covid-19 patients. *Exp Hematol Oncol.* 2020. V. 17 P. 9-16. doi: 10.1186/s40164-020-00172-4.
 18. He J., Wei Y., Chen J., Chen F. Dynamic trajectory of platelet-related indicators and survival of severe Covid-19 patients. *Crit Care.* 2020. V. 24(1). P. 607. doi: 10.1186/s13054-020-03339-x.

19. Zhong Q., Peng J. Mean platelet volume/platelet count ratio predicts severe pneumonia of Covid-19. *J Clin Lab Anal.* 2021. V. 35(1). P. 23607. doi: 10.1002/jcla.23607.
20. Comer S.P., Cullivan S., Szklanna P.B., Weiss L. Covid-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets. *PLoS Biol.* 2021. V. 19(2). P. 3001109. doi: 10.1371/journal.pbio.3001109.
21. Ligi D., Della F., Chiara.N., Kin I. Platelet distribution width (PDW) as a significant correlate of Covid-19 infection severity and mortality *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2023.doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0625>.
22. Lin J., Yan H., Chen H., He C. Covid-19 and coagulation dysfunction in adults: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2021. V. 93(2). P. 934-944. doi: 10.1002/jmv.26346.
23. Sridharan M.D., Navitskas S.M., Kock E.E., Houghton D.M. Evaluation of soluble fibrin monomer complex in patients in SARS-CoV-2 Covid-19 infection-associated coagulopathy. *Eur J Haematol.* 2022. V. 108(4). P. :319-326. doi: 10.1111/ejh.13738.
24. Kawame C., Kasai H., Shiohira S., Sugiura T. Role of Fibrin Monomer Complex in Coronavirus Disease 2019 for Venous Thromboembolism and the Prognosis. *Intern Med.* 2023. V. 62(20). P. 2941-2948. doi: 10.2169/internalmedicine.1322-22.
25. Windyga J. Covid-19 a zaburzenia hemostazy. *Med. Prakt..* 2020. V. 7-8. P. 59–68. doi: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.1374.66>.
26. Ito T. PAMPs and DAMPs as triggers for DIC. *J Intensive Care.* 2014.V. 2(1). P. 67. doi: 10.1186/s40560-014-0065-0.
27. Oehmcke-Hecht S., Köhler J. Interaction of the Human Contact System with Pathogens-An Update. *Front Immunol.* 2018. V. 9. P. 312. doi: 10.3389/fimmu.2018.00312.
28. Lazzaroni M.G., Piantoni S., Masneri S., Garrafa E. Coagulation dysfunction in Covid-19: The interplay between inflammation, viral infection and the

- coagulation system. *Blood Rev.* 2021. V. 46. P. 100745. doi: 10.1016/j.blre.2020.100745.
29. Han H., Ma Q., Li C., Liu R. Profiling serum cytokines in Covid-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerg Microbes Infect.* 2020. V. 9(1). P. 1123-1130. doi: 10.1080/22221751.2020.1770129..
30. Adesanya T.M., Campbell C.M., Cheng L., Ogbogu P.U. C1 Esterase Inhibition: Targeting Multiple Systems in Covid-19. *J Clin Immunol.* 2021. V. 41(4). P. 729-732. doi: 10.1007/s10875-021-00972-1..
31. Zhu J., Pang J., Ji P., Zhong Z. Coagulation Dysfunction is Associated With Severity of Covid-19: A Meta-Analysis. *J. Med. Virol.* 2021. V. 93(2). P. 962–972. doi: <https://doi.org/10.1002/jmv.26336>
32. Luo H. C., You C. Y., Lu S. W., Fu Y. Q. Characteristics of Coagulation Alteration in Patients With Covid-19. *Ann. Hematol.* 2021. V. 100(1). P. 45–52. doi: 10.1007/s00277-020-04305-x
33. He J., Wei Y., Chen J., Chen F. Dynamic trajectory of platelet-related indicators and survival of severe Covid-19 patients. *Crit Care.* 2020 V. 24(1). P. 607. doi: 10.1186/s13054-020-03339-x.
34. Hardımcı A.C., Yıldız S., Ergen E., Ballı H. Association between platelet indices and the severity of the disease and mortality in patients with Covid-19. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021. V. 25. P. 6731–40. doi: https://doi.org/10.26355/eurrev_202111_27118.
35. Wang Y., Fan Z., Wang S., Zhuang C. The diagnostic value of platelet distribution width in patients with mild Covid-19. *J Clin Lab Ana.* 2021. V. 35. P. 23703. doi: <https://doi.org/10.1002/jcla.23703>
36. Ligi D., Della F., Chiara N., Kin I. Brandon Michael and Mannello, Ferdinando. "Platelet distribution width (PDW) as a significant correlate of Covid-19 infection severity and mortality" *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2023. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0625>

37. Sridharan M.D., Navitskas S.M. Kock E.E. Houghton D.M. Evaluation of soluble fibrin monomer complex in patients in SARS-CoV-2 Covid-19 infection-associated coagulopathy. *Eur J Haematol.* 2022. V. 108(4). P. 319-326. doi: 10.1111/ejh.13738.
38. Greenhalgh T., Knight M.A., Court C., Buxton M. Husain L. Management of post-acute Covid-19 in primary care. *BMJ.* 2020. V. 11. P. 370. doi: 10.1136/bmj.m3026. PMID: 32784198.
39. Townsend L., Fogarty H., Dyer A., Martin-Loeches I. Prolonged elevation of D-dimer levels in convalescent Covid-19 patients is independent of the acute phase response. *J Thromb Haemost.* 2021. V. 19(4). P. 1064-1070. doi: 10.1111/jth.15267.
40. Kawame C., Kasai H., Shiohira S., Sugiura T. Role of Fibrin Monomer Complex in Coronavirus Disease 2019 for Venous Thromboembolism and the Prognosis. *Intern Med.* 2023. V. 62(20). P. 2941-2948.