

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-005.6:616.151.5

Г.А. Артемьева¹, А.И. Калининская^{1, 2}✉, А.С. Мальцева², А.И. Артемьев³, А.Н. Розин¹,
А.Ю. Лебедева^{1, 2}, Е.Ю. Васильева^{1, 2}

Изменения гемостаза в отдаленный период после перенесенной коронавирусной инфекции

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница им. И.В. Давыдовского» ДЗ г. Москвы, Москва, Российская Федерация

² Кафедра кардиологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ООО «ИнфоНет Мобил», Москва, Российская Федерация

Артемьева Галина Александровна, терапевт; orcid.org/0000-0003-0890-3506

✉ Калининская Анна Ильинична, доцент, канд. мед. наук, заведующий отделением; orcid.org/0000-0003-2316-4238, e-mail: kalinskaya.anna@gmail.com

Мальцева Александра Сергеевна, клинический ординатор; orcid.org/0000-0002-1215-132X

Артемьев Александр Игоревич, ведущий математик-аналитик; orcid.org/0000-0002-5373-8231

Розин Александр Николаевич, канд. мед. наук, заведующий отделением; orcid.org/0000-0001-6351-4058

Лебедева Анастасия Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, заместитель главного врача; orcid.org/0000-0002-4060-0786

Васильева Елена Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией, главный врач; orcid.org/0000-0002-6310-7636

Резюме

Цель. В настоящее время очевидна гиперкоагуляция и высокая частота тромбозов в острую фазу COVID-19. Однако динамика этих изменений остается малоизученной. Целью нашей работы была оценка различных звеньев гемостаза через несколько месяцев после перенесенного COVID-19.

Материал и методы. Пациентов, выписанных из нашей клиники, приглашали для обследования через 2,3–3,8 (1-я группа – 55 человек) и 4,6–5,7 мес (2-я группа – 45 человек) от дня госпитализации. Результаты стандартной коагулограммы, агрегации, тромбодинамики и фибринолиза сравнивались на разных сроках после болезни и с группой контроля (37 человек), набранной до пандемии.

Результаты. Во 2-й группе уровень D-димера был значимо выше, а активированного частичного тромбопластинового времени – ниже, чем в 1-й, уровни фибриногена, протромбина значимо не различались. Агрегация тромбоцитов, индуцированная ацетилсалициловой кислотой (ASA), аденозиндифосфатом (ADP), пептидами, активирующими рецепторами тромбина (TRAP), спонтанная агрегация значимо не различалась между группами. В обеих исследуемых группах была выявлена гипокоагуляция по сравнению с группой контроля по данным тромбодинамики: снижение скорости роста сгустка: V, мкм/мин 27,3 (интерквартильный интервал (IQR) 26,3; 29,4) и 28,3 (26,5; 30,1) против 32,6 (30,4; 35,9) 1-я и 2-я группы против группы контроля соответственно; все $p < 0,001$. Размер и плотность сгустка также были значимо ниже, чем в контрольной. Активность фибринолиза во 2-й группе оказалась выше, чем в контрольной группе и в 1-й группе. Прогрессия лизиса была больше, LP, %/мин 3,5 (2,5; 4,8) против 2,4 (1,6; 3,5) и 2,6 (2,2; 3,4) по сравнению с контролем и 1-я группа соответственно, все $p < 0,05$. Время начала лизиса (LOT) в обеих группах было значимо короче, чем в контрольной.

Заключение. В отдаленный период коронавирусной инфекции у пациентов отмечается нормализация параметров тромбообразования, однако остается повышенной активация системы фибринолиза. Клиническое значение этого факта требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: COVID-19, тромбообразование, фибринолиз, постковидный синдром

Для цитирования: Артемьева Г.А., Калининская А.И., Мальцева А.С., Артемьев А.И., Розин А.Н., Лебедева А.Ю., Васильева Е.Ю. Изменения гемостаза в отдаленный период после перенесенной коронавирусной инфекции. *Креативная кардиология*. 2021; 15 (3): 377–88. DOI: 10.24022/1997-3187-2021-15-3-377-388

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.07.2021

Поступила после доработки 23.08.2021

Принята к печати 25.08.2021

G.A. Artem'eva¹, A.I. Kalinskaya^{1, 2}, A.S. Mal'tseva², A.I. Artem'ev³, A.N. Rozin¹,
A.Yu. Lebedeva^{1, 2}, E.Yu. Vasilieva^{1, 2}

Long-term coagulation abnormalities after COVID-19

¹ Davydovskiy City Clinical Hospital of Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

² Department of Cardiology of Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ InfoNet Mobil Limited Liability Company, Moscow, Russian Federation

Galina A. Artem'eva, Therapist; orcid.org/0000-0003-0890-3506

✉ Anna I. Kalinskaya, Associate Professor, Cand. Med. Sci., Head of Department; orcid.org/0000-0003-2316-4238,
e-mail: kalinskaya.anna@gmail.com

Aleksandra S. Mal'tseva, Resident Physician; orcid.org/0000-0002-1215-132X

Aleksandr I. Artem'ev, Leading Mathematical Analyst; orcid.org/0000-0002-5373-8231

Aleksandr N. Rozin, Cand. Med. Sci., Head of Department; orcid.org/0000-0001-6351-4058

Anastasiya Yu. Lebedeva, Dr. Med. Sci., Professor, Deputy Chief Physician; orcid.org/0000-0002-4060-0786

Elena Yu. Vasilieva, Dr. Med. Sci., Professor, Head of Laboratory, Chief Physician; orcid.org/0000-0002-6310-7636

Abstract

Objective: Hypercoagulation and high incidence of thrombosis during COVID-19 is well established. However, there is a lack of data, how it changes over time. The main purpose of our study was to access different parts of hemostasis in few months after acute disease.

Material and methods. Patients discharged from our hospital were invited for follow up examination in 2,3–3,8 (group 1 – 55 pts) or 4,6–5,7 months (group 2 – 45 pts) after admission. Control group (37 healthy adults) had been collected before pandemic started. Standard coagulation tests, aggregometry, thrombodynamics and fibrinolysis results were compared between groups.

Results: D-dimer was significantly higher, and was APPT was significantly lower in group 2 compared to group 1, while fibrinogen, prothrombin levels didn't differ. Platelet aggregation induced by ASA, ADP, TRAP, spontaneous aggregation didn't differ significantly between groups. Thrombodynamics revealed hypocoagulation in both group 1 and group 2 compared to control: V, $\mu\text{m}/\text{min}$ 27,3 (Interquartile range (IQR) 26,3; 29,4) and 28,3 (IQR 26,5; 30,1) vs. 32,6 (IQR 30,4; 35,9) respectively; all $p < 0,001$. Clot size and density in both group 1 and group 2 were significantly lower than in control group.

Fibrinolysis appeared to be enhanced in x2 compared to control and group 1. Lysis progression, $\%/ \text{min}$ was higher: 3,5 (2,5; 4,8) vs. 2,4 (1,6; 3,5) and 2,6 (2,2; 3,4) respectively, all $p < 0,05$. Lysis onset time in both group 1 and group 2 was significantly shorter compared to control.

Conclusion: We revealed normalization of parameters of clot formation process in 2–6 months after COVID-19, while fibrinolysis remained still enhanced. Further study is required to investigate the clinical significance of these changes.

Keywords: COVID-19, thrombus formation, fibrinolysis, post-COVID-19 syndrome

For citation: Artem'eva G.A., Kalinskaya A.I., Mal'tseva A.S., Artem'ev A.I., Rozin A.N., Lebedeva A.Yu., Vasilieva E.Yu. Long-term coagulation abnormalities after COVID-19. *Creative Cardiology*. 2021; 15 (3): 377–88 (in Russ.). DOI: 10.24022/1997-3187-2021-15-3-377-388

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received July 28, 2021
Revised August 23, 2021
Accepted August 25, 2021

Введение

К настоящему времени убедительно показана высокая частота тромбозов в острую фазу COVID-19. Чаще всего выявляются венозные тромбозы и тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), частота которых

достигает 41–59% в отделениях интенсивной терапии. Частота симптомных тромбоэмболических осложнений (ТЭО) в линейных отделениях ниже [1, 2]. Однако исследование пациентов с легкими/средними формами COVID-19 свидетельствует о значительной недооценке частоты тромбозов:

при проведении компьютерно-томографической (КТ) венографии их встречаемость составила 82,9%, тогда как при ультразвуковом исследовании (УЗИ) тромбоз был визуализирован только у 4,3% пациентов [3]. Течение COVID-19 также может осложняться артериальными тромбозами с развитием ишемического инсульта, инфаркта миокарда, критической ишемии конечностей и т. д. [4]. Кроме того, при исследовании аутопсийного материала выявлено формирование тромбозов микроциркуляции, что может приводить к органной дисфункции, усугубляя дыхательную недостаточность [5] и приводя к нарушению функции почек [6].

В анализах крови у пациентов с COVID-19 выявляются повышенные уровни фибриногена, D-димера, фактора фон Виллебранда (vWF), ряд исследований также указывают на удлинение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и протромбинового времени (ПВ). Данные изменения более выражены у пациентов в критическом состоянии [1, 7–11]. На удлинение АЧТВ и ПВ может влиять волчаночный антикоагулянт, который встречается, по некоторым данным, у 87–91% пациентов с COVID-19, но, как известно, ассоциирован не с риском кровотечений, а с тромбофилией [1, 12]. Кроме того, может выявляться тромбоцитопения [7], чаще умеренная, которая может компенсироваться повышением уровня vWF [1, 13] и тромбоцитарной активности [10]. Была показана ассоциация повышенного уровня D-димера, ПВ, АЧТВ, тромбоцитопении с внутрибольничной смертностью [7, 8, 11].

Глобальные тесты оценки гемостаза, тромбоэластография (ТЭГ) и ротационная тромбоэластометрия (РОТЭМ), однозначно демонстрируют гиперкоагуляцию в острую фазу COVID-19 [9, 10, 14, 15], также выявляются признаки угнетения фибринолиза – снижение индекса лизиса, LY30 [9, 14]. Однако эти методы показывают баланс свертывающей и противосвертывающей

систем, но не позволяют изолированно судить о фибринолитической активности. При проведении тромбодинамики в режиме фибринолиза, теста для прицельной оценки параметров фибринолиза, было выявлено его ускорение [15]. Это согласуется с полученным в другой работе повышением уровня комплексов плазмин-антиплазмин, которые отражают фибринолитическую активность [13], а также с повышением уровня D-димера при COVID-19. Было показано одновременно повышение как ингибиторов фибринолиза – PAI-1, TAFI, так и тканевого активатора плазминогена tPA, что отражает сложные воздействия на систему фибринолиза [13, 16, 17]. Отсутствие лизиса сгустка на 30-й минуте и повышенный уровень D-димера, по некоторым данным, ассоциированы с частотой ТЭО и потребностью в заместительной почечной терапии [9, 14]. Нарушение показателей эластометрии, часто сохраняющееся при профилактической антикоагулянтной терапии, имело тенденцию к нормализации при увеличении дозы антикоагулянтов [10, 14].

Помимо собственно нарушений коагуляции, к тромбозам при COVID-19 могут приводить эндотелиальная дисфункция, признаки которой выявляются биохимически [18] и морфологически [19], а также обезвоживание и иммобилизация.

Распространенность венозных ТЭО-событий в течение 1–3 мес после госпитализации по поводу COVID-19, по данным разных авторов, составляет 0,5–2,6%. Артериальные тромбозы выявляются у 1,7–1,9% пациентов [20, 21]. В целом распространенность венозных тромбозов после стационарного лечения COVID-19 значимо не превосходит таковую после госпитализаций по другим причинам [20, 22]. Спорным остается вопрос о необходимости продолженного профилактического приема антикоагулянтов. Есть данные о снижении комбинированного 90-дневного риска ТЭО и смерти после выписки по поводу COVID-19 при применении профилакти-

ческой антикоагулянтной терапии [21]. Также вне пандемии COVID-19 было показано снижение риска ТЭО при продленной антикоагулянтной терапии после госпитализации в отобранных когортах высокого риска тромбоза на основании возраста, уровня D-димера, модифицированной шкалы IMPROVE [23, 24]. Тем не менее Национальный институт здоровья США не рекомендует применение антикоагулянтов после выписки по поводу COVID-19 [25]. Отечественные рекомендации допускают продолжение антикоагулянтной терапии до 30–45 дней при наличии факторов риска ТЭО, включающих возраст, лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), активное злокачественное новообразование, ТЭО в анамнезе, сохраняющуюся иммобилизацию, уровень D-димера более чем в 2 раза выше верхней границы нормы [26].

Кроме ТЭО, описано сохранение рентгенологических изменений и снижения диффузионной способности легких в течение нескольких месяцев после перенесенного COVID-19. Показана корреляция частоты выявления изменений на КТ и степени снижения диффузионной способности с тяжестью перенесенного заболевания [27]. Большинство пациентов продолжают испытывать ряд симптомов, чаще всего слабость, одышку, нарушение сна, тревожность или депрессию, что объединяется в понятие постковидного синдрома [28]. Частично эти симптомы пересекаются с клинической картиной пациентов, перенесших другие острые состояния [29]. Патфизиология постковидного синдрома в настоящее время не изучена. Высокий уровень D-димера во время заболевания имеет предсказательную силу в отношении формирования легочного фиброза, нарушения диффузионной способности легких (DLCO), когнитивных изменений [30, 31].

Данные о динамике коагулопатии после перенесенного COVID-19 крайне малочисленны. Несколько исследований показали сохраняющееся повышение D-димера

у 25–38% пациентов через 2–3 мес после выписки [32–35], хотя, по некоторым данным, получена его нормализация [13, 36]. Единичные работы указывают на нормализацию большинства лабораторных показателей (АЧТВ, ПВ, фибриноген, фактор V, VWF, комплексы тромбин-анти тромбин, показателей РОТЭМ) после выздоровления, сохраняющееся повышение уровней фактора VIII, ингибитора активатора плазминогена; повышение тромбинового потенциала по сравнению с острой фазой; снижение комплексов плазмин-антиплазмин по сравнению с группой контроля [13, 35, 36]. Целью нашей работы было изучение динамики состояния различных звеньев гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19.

Материал и методы

Исследование было проведено в Городской клинической больнице им. И.В. Давыдовского с июля 2020 г. по апрель 2021 г. Протокол исследований был разработан в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и был одобрен местным этическим комитетом. Пациенты, госпитализированные в специализированное подразделение по лечению COVID-19 нашей больницы со 2 мая по 2 июля 2020 г. и с 12 октября по 11 ноября 2020 г. (сроки работы подразделения, прекращение набора после достижения целевого размера выборки; диагноз COVID-19 подтверждался по данным полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или рентгенологически) предварительно отбирались при соответствии хотя бы одному критерию включения: 1) проведение расширенного лабораторного обследования при поступлении, включавшего тест FMD, импедансную агрегометрию, тромбодинамику и тромбодинамику в режиме фибринолиза; 2) КТ-стадия коронавирусной пневмонии КТ-2 и максимальный уровень D-димера в ходе госпитализации не менее 500 нг/мл; 3) КТ-стадия 3–4 при любом уровне D-димера. Критериями исключения были: продолжающийся на

момент включения прием антикоагулянтов, активный опухолевый процесс, положительный ВИЧ-статус. Отобранных пациентов приглашали на визит для проведения обследования, включавшего опрос, FMD-тест, анализы крови (общий, биохимический, коагулограмма с определением D-димера, импедансная агрегометрия, тромбодинамика, тромбодинамика в режиме фибринолиза).

Группа контроля из здоровых добровольцев была набрана до 2019 г., проведенное обследование включало импедансную агрегометрию, тромбодинамику, тромбодинамику в режиме фибринолиза. Информированное согласие было получено от всех участников исследования.

Забор крови для лабораторного обследования производился в 1 пробирку с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) для проведения общего анализа крови, 1 пробирку с активатором свертывания для биохимического анализа крови, 3 пробирки с цитратом натрия для стандартного коагулологического исследования, агрегометрии, тромбодинамики и фибринолиза. Кровь поступала в работу в течение 15 мин после забора.

Исследование агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, ацетилсалициловой кислотой, пептидами, активирующими рецептор тромбина (TRAP) проводилось на анализаторе Multiplate (Roche Diagnostics, Германия); спонтанной агрегации на анализаторе Biola АЛАТ-2 (Biola, Россия). В тестах агрегации оценивалась площадь под агрегационной кривой. Тромбодинамика и фибринолиз выполнялись на приборе «Тромбодинамика» (HemaCore, Россия). В качестве анализируемых показателей тромбодинамики использовались: скорость роста сгустка (V , мкм/мин), начальная скорость роста сгустка (V_i , мкм/мин), стационарная скорость роста сгустка (V_{st} , мкм/мин), время задержки свертывания (T_{lag} , мин), плотность сгустка (D , у.е.), размер сгустка (Cs , мкм), время образования спонтанных сгустков (T_{sp} , мин),

которые в норме отсутствуют, их появление свидетельствует о гиперкоагуляции. Фибринолиз проводился с добавлением тканевого активатора плазминогена в течение 4 ч. При проведении фибринолиза оценивались: время начала лизиса (LOT, мин) – время, через которое светорассеяние внутри сгустка уменьшается на 30% от исходного, развитие лизиса (LP, %/мин) – скорость уменьшения светорассеяния в последующие 5 мин после начала лизиса, индекс лизиса (Li, %) – отношение плотности сгустка через 5 мин после начала лизиса к максимальной исходной, время лизиса сгустка (CLT, мин) – время снижения плотности сгустка до 0,05 от максимальной, оцениваемое время лизиса (LTE, мин) – расчетное на основе LP время, за которое плотность сгустка снизится от максимальной до нулевой.

FMD-тест для определения эндотелий-зависимой вазодилатации проводился по стандартной методике, правая плечевая артерия пережималась манжетой тонометра на 5 мин, рассчитывался прирост диаметра артерии после пережатия по сравнению с исходным. Диаметр артерии оценивался на УЗ-аппарате General Electric Vivid e9.

Статистический анализ проводился на языке Python v3.6 с использованием пакетов `scipy 1.0.0`, `statsmodels 0.8.0`, `pandas 0.22.0`, `numpy 1.14.0`, для графики `matplotlib 2.2.2`. Сравнение выборок по полу проводилось с помощью точного теста Фишера с двусторонней альтернативной гипотезой, распределение выборок по возрасту сравнивалось с помощью теста Манна–Уитни с двусторонней альтернативной гипотезой. Сопоставимость выборок по возрасту и полу достигалась посредством пошагового выявления пациента, исключение которого приводило к максимальному увеличению наименьшего p следующих 4 тестов: точный тест Фишера для распределения по полу, тесты Манна–Уитни для распределения по возрасту среди всех пациентов, отдельно женщин и отдельно мужчин. Сравнение количественных показателей осуществлялось с помощью теста Манна–

Уитни с двусторонней альтернативной гипотезой. В каждой группе определялись медиана, 25-й и 75-й процентиля. Поправка на множественную проверку гипотез выполнялась по методу Бенджамини–Хохберга. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Всего были включены 103 пациента в основную группу, в том числе 56 пациентов через 70–116 (медиана 99) дней от даты госпитализации (1-я группа) и 47 – через 139–173 (медиана 160) дня (2-я группа). Группа контроля составляла 47 человек. После выравнивания по полу и возрасту размеры групп составили: 1-я – 55 человек, 2-я – 45, контроль – 37 человек.

Демографические характеристики групп представлены в таблице 1. Уровни лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, протромбина, фибриногена были доступны в 1-й и 2-й группах и значимо не различались между ними, хотя отмечалась статистически незначимое снижение фибриногена в пределах нормальных значений во 2-й группе, $p < 0,1$. Уровень D-димера был значимо выше во 2-й группе по сравнению с 1-й, 395 (291–640) против 190 (150; 280), $p < 0,001$; АЧТВ было ниже во 2-й группе по сравнению с 1-й, 31,1 (29,4; 32,8) против 29,7 (25,6; 32,9), $p < 0,05$, оставаясь в пределах нормальных значений (рис. 1). Не было получено статистически значимых различий в функции эндотелия по данным FMD-теста и в агрегационной способности тромбоцитов, индуцированной ASA,

Таблица 1

Демографические характеристики исследуемых групп

Table 1. Demographic characteristics of the control, groups 1, and 2

| Параметр | Группа | | | p-критерий, | | |
|---------------------------|---------------------|----------------|----------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| | контроль, n = 37 | 1-я, n = 55 | 2-я, n = 45 | контроль против 1-й | контроль против 2-й | 1-я группа против 2-й |
| Пол | | | | | | |
| муж | 17 (46) | 19 (35) | 21 (47) | 0,29 | 1,0 | 0,23 |
| жен | 20 (54) | 36 (65) | 24 (53) | | | |
| Возраст, лет | 57,0±12,7 | 57,6±11,1 | 59,0±10,8 | 0,91 | 0,31 | 0,39 |
| Сопутствующие заболевания | | | | | | |
| АГ | 8 (22) | 33 (60) | 30 (67) | 0,0003 | 0,0001 | 0,54 |
| СД | 2 (5) | 13 (24) | 7 (16) | 0,02 | 0,17 | 0,45 |
| ожирение | – | 8 (15) | 8 (18) | – | – | 0,78 |
| ССЗ (ИБС, ФП, ОНМК) | – | 4 (7) | 1 (2) | – | – | 0,31 |
| ХОБЛ/БА | – | 2 (4) | 1 (2) | – | – | 1,0 |
| КТ-стадия | | | | | | |
| 1 | – | 4 (7) | 0 (0) | – | – | 0,13 |
| 2 | – | 25 (45) | 22 (49) | – | – | 0,84 |
| 3 | – | 25 (45) | 18 (40) | – | – | 0,69 |
| 4 | – | 1 (2) | 5 (11) | – | – | 0,09 |

Примечание. АГ – артериальная гипертензия; БА – бронхиальная астма; ИБС – ишемическая болезнь сердца; КТ – компьютерная томография; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; СД – сахарный диабет; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ФП – фибрилляция предсердий; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

Результаты представлены в виде n (%), где n – число больных, а также M±SD, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение.

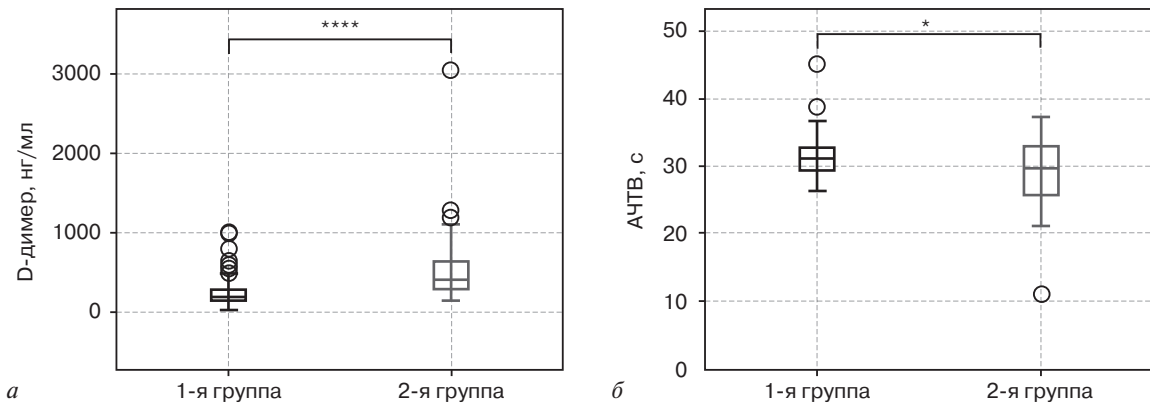


Рис. 1. Параметры D-димера (а) и АЧТВ (б) в сравнении между 1-й и 2-й группами.

* $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$

Fig. 1. Comparison of D-dimer (ng/ml) (a) and APPT (s) (b) levels in groups 1, and 2.

* $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$

ADP, TRAP, спонтанной агрегацией между группами контроля, 1-й и 2-й группами.

Тромбообразование было значимо угнетено в обеих исследуемых группах. Скорость роста сгустка (V), в том числе начальная (V_i) и стационарная (V_{st}), была медленнее в 1-й и 2-й группах по сравнению с контролем. Время задержки свертывания (T_{lag}) в исследуемых группах было повышено, а размер (CS) и плотность (D) сгустка снижены по сравнению с контрольной (рис. 2).

Интересно, что отмечалась тенденция к более выраженному угнетению коагуляции в 1-й группе по сравнению со 2-й, достигающая статистической значимости только при сравнении начальной скорости образования сгустка: V_i 53,9 (IQR 51; 56,4) мкм/мин против 56,5 (IQR 52,2; 59,6), $p = 0,04$. Численное сравнение показателей тромбодинамики между группами представлено в таблице 2.

Активность фибринолиза, напротив, оказалась повышенной в исследуемых группах, преимущественно во 2-й. Время начала лизиса (LOT, мин) в 1-й и 2-й группах было меньше, чем в контрольной, оба $p < 0,001$. Во 2-й группе прогрессия лизиса (LP) была выше, а оцениваемое время лизиса (LTE) и индекс лизиса (L_i) ниже по

сравнению и с контролем и с 1-й группой, что свидетельствует о значимом ускорении фибринолиза в этой группе. Время лизиса сгустка (CLT) между группами значимо не различалось (рис. 3). Сравнение численных показателей фибринолиза представлено в таблице 3.

Обсуждение

При исследовании статуса гемостаза через несколько месяцев после перенесенной коронавирусной инфекции нами было выявлено угнетение тромбообразования в обеих исследуемых группах, более выраженное в относительно ранние сроки — 2,3–3,8 мес после болезни, а также активация фибринолиза, выраженная преимущественно в более поздние сроки — 4,6–5,7 мес после болезни. Отсутствие значимых различий в агрегационной способности тромбоцитов соотносится с продемонстрированным нами ранее вторичным характером активации тромбоцитарного звена гемостаза в развитии коагулопатии, ассоциированной с коронавирусной инфекцией [15]. Уровень D-димера на поздних сроках после перенесенной инфекции был выше, чем на ранних, что согласуется с повышением активности фибринолиза. Повышение D-димера после перенесенной

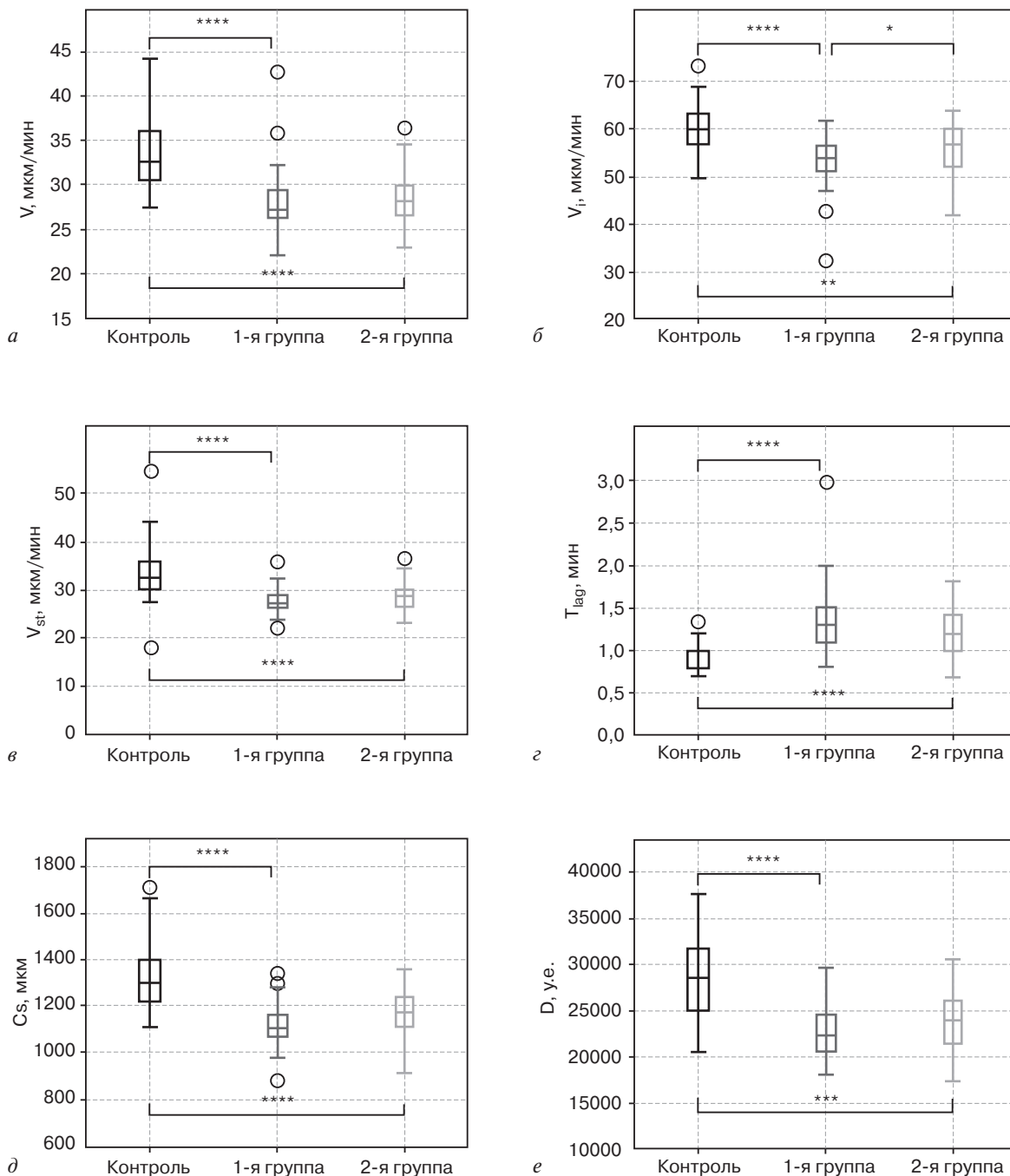


Рис. 2. Сравнение параметров тромбодинамики между 1-й, 2-й группами и группой контроля:
 а – скорость роста сгустка (V , мкм/мин); б – начальная скорость роста сгустка (V_i , мкм/мин); в – стационарная скорость роста сгустка (V_{st} , мкм/мин); г – время задержки свертывания (T_{lag} , мин); д – размер сгустка (Cs , мкм); е – плотность сгустка (D , у.е.).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Fig. 2. Comparison of the thrombodynamics parameters between groups 1, 2, and control group:

a – V ($\mu\text{m}/\text{min}$); b – V_i ($\mu\text{m}/\text{min}$); c – V_{st} ($\mu\text{m}/\text{min}$); d – T_{lag} (min); e – размер сгустка (Cs , μm); f – (D , у.е.)

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Таблица 2

Сравнение параметров тромбодинамики между 1-й и 2-й группами и группой контроля

Table 2. Comparison of the thrombodynamics parameters between groups 1, 2, and control group

| Показатель | Медиана (интерквартильный интервал) исследуемых групп | | |
|---------------------------|---|-----------------------|----------------------------|
| | контрольная | 1-я группа | 2-я группа |
| V, мкм/мин | 32,6 (30,4; 35,9) | 27,3 (26,3; 29,4)* | 28,3 (26,5; 30,1)*** |
| V _i , мкм/мин | 59,8 (56,7; 59,8) | 53,9 (51; 56,4)* | 56,5 (52,2; 59,6)** , **** |
| V _{st} , мкм/мин | 32,5 (30,3; 36,0) | 27,2 (26,3; 28,9)* | 28,7 (26,6; 30,1)*** |
| T _{lag} , мин | 0,8 (0,8; 1,0) | 1,3 (1,1;1,5)* | 1,2 (1,0; 1,4)*** |
| CS, мкм | 1301 (1218;1397) | 1109 (1074; 1161)* | 1172 (1089;1237)*** |
| D, у.е. | 28550 (24967; 31769) | 22419 (20612; 24678)* | 23884 (21341;26114)*** |

Примечание. V – скорость роста сгустка; V_i – начальная скорость роста сгустка; V_{st} – стационарная скорость роста сгустка; T_{lag} – время задержки свертывания; CS – размер сгустка; D – оптическая плотность сгустка.

* p < 0,001 – 1-я группа против группы контроля, ** – p < 0,005 2-я группа против группы контроля, *** p < 0,001 – 2-я группа против группы контроля, **** p < 0,05 – 2-я группа против 1-й.

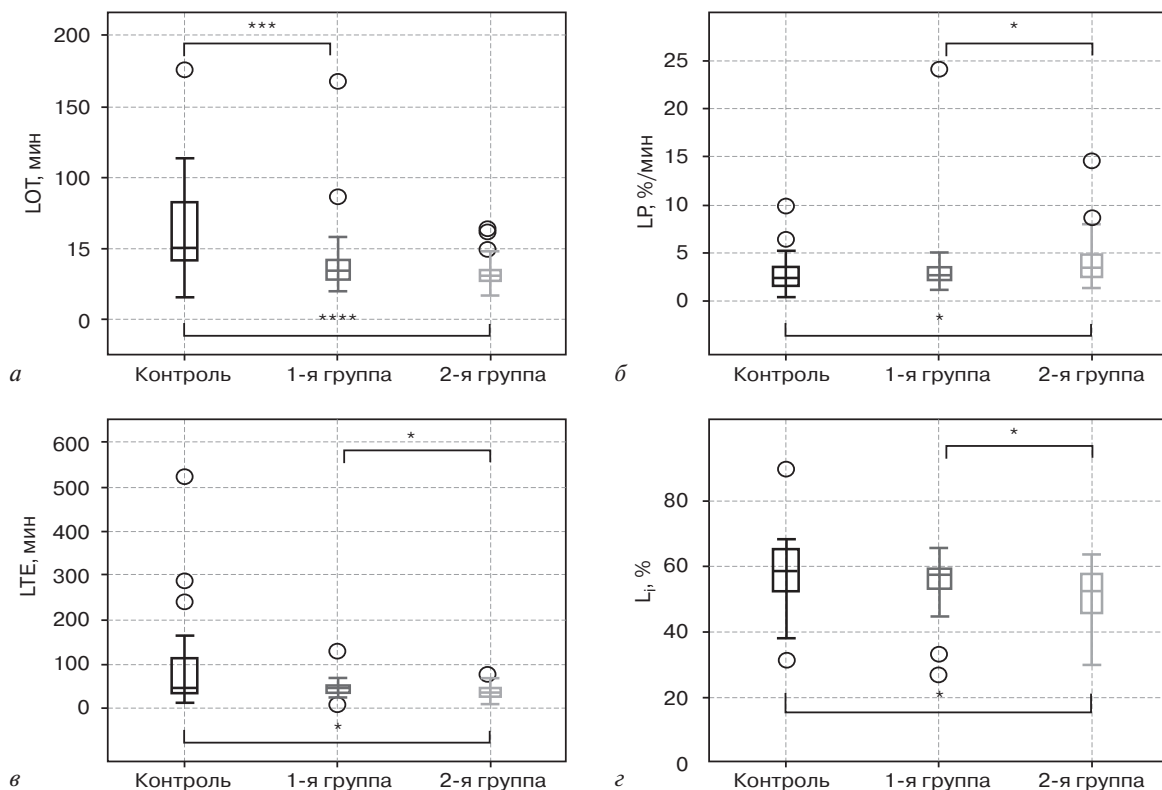


Рис. 3. Сравнение параметров фибринолиза между 1-й, 2-й группами и группой контроля.

a – время начала лизиса (LOT, мин); б – развитие лизиса (LP, %/мин); в – оцениваемое время лизиса (LTE, мин); г – индекс лизиса (L_i, %).

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001.

Fig. 3. Comparison of the fibrinolysis parameters between groups 1, 2, and control group:

a – lysis onset time (LOT, min); b – lysis progression (LP, %/min); c – lysis time estimation (LTE, min); d – lysis index (L_i, %).

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001.

**Сравнение параметров фибринолиза
между 1-й и 2-й группами и группой контроля**

Table 3. Comparison of the fibrinolysis parameters between between groups 1, 2, and control group

| Показатель | Медиана (интерквартильный интервал) исследуемых групп | | |
|------------|---|--------------------|----------------------------|
| | контрольная | 1-я группа | 2-я группа |
| LOT, мин | 49,2 (42,0; 82,9) | 34,0 (28,2; 41,1)* | 30,9 (27,7; 35,5)** |
| Li, % | 58,7 (52,5; 65,0) | 57,4 (53,2; 59,1) | 52,5 (45,9; 57,5)***, **** |
| LP, %/min | 2,4 (1,6; 3,5) | 2,6 (2,2; 3,4) | 3,5 (2,5; 4,8)***, **** |
| CLT, мин | 35,7 (25,2; 71,5) | 35,8 (28,5; 39,4) | 27,6 (24,2; 36,5) |
| LTE, мин | 44,9 (33,0; 112,0) | 43,3 (36,3; 49,4) | 33,8 (25,1; 43,7)***, **** |

Примечание. LOT (lysis onset time) – время начала лизиса; Li (lysis index) – индекс лизиса; LP (lysis progression) – прогрессия лизиса; CLT (clot lysis time) – время лизиса сгустка; LTE (lysis time estimation) – ожидаемое время лизиса.

* $p < 0,001$ – 1-я группа против контроль, ** $p < 0,001$ – 2-я группа против контроль, *** $p < 0,05$ – 2-я группа против контроль, **** $p < 0,05$ – 2-я группа против 1-я группа

коронавирусной инфекции показано и в других работах [32–35].

Нами впервые был проведен широкий спектр лабораторного обследования, позволяющий прицельно оценивать различные звенья гемостаза в отдаленный период после перенесенной коронавирусной инфекции. В литературе есть данные по оценке отдельных звеньев или параметров гемостаза в отдаленный период. Так, в работе А. Magomedov et al. была получена нормализация измененных при болезни параметров РОТЭМ (максимальная плотность сгустка, максимальный лизис) у 13 пациентов через 3 мес после выписки из ОРИТ [36]. В работе F.A. von Meijenfeldt et al., где отдельно оценивались тромбообразование и фибринолиз в отдаленном периоде после COVID-19 [13], у 52 пациентов через 4 мес после болезни сохранялось повышение фактора VIII, тест генерации тромбина демонстрировал гиперкоагуляцию, хотя уровень комплексов тромбин-анти тромбин нормализовался, а увеличение тромбинового потенциала не ассоциировалось с увеличением протромбина или снижением АТ-3 или протеина С, которые являются важными детерминантами генерации тромбина; возможно, вклад мог внести повышенный уровень фактора VIII. При оценке фибринолиза выявлялось по-

вышение уровня PAI-1, и снижение по сравнению с контролем уровня комплексов плазмин-антиплазмин, что свидетельствует об угнетении фибринолиза. Хотя применяемые лабораторные методы и сроки обследования были другими, с нашими результатами это не согласуется.

В целом и наши данные, и результаты других исследований показывают длительно сохраняющиеся изменения в системе гемостаза после перенесенной коронавирусной инфекции. Механизмы, приводящие к столь продолжительному угнетению тромбообразования и гиперфибринолізу, остаются неизвестными. Можно предполагать разрушение образованных ранее тромбов микроциркуляции или фибриновых отложений в альвеолах, для проверки этой гипотезы необходимы дополнительные исследования. Также не установлена роль сохраняющихся изменений гемостаза в патогенезе постковидного синдрома, в известных нам исследованиях корреляция сохраняющихся лабораторных изменений и симптомов не оценивалась.

Ограничениями нашей работы является отсутствие визуализации сосудистого русла для выявления бессимптомных тромбов глубоких вен или тромбоэмболии мелких ветвей легочной артерии, которые могли бы обуславливать вторичный гиперфибри-

нолиз. Кроме того, неизбежным является сравнение исследуемых групп с исторической группой контроля, что может приводить к методологическим неточностям. Необходимость посещения пациентом исследовательского центра приводила к дополнительному отбору испытуемых. Несмотря на умеренный объем выборок, нам удалось выявить высокодостоверные различия между группами. Полученные временные закономерности требуют более масштабных клинических исследований для оценки значимости и уточнения продолжительности выявленных изменений.

Заключение

В отдаленный период коронавирусной инфекции (2–6 мес после заболевания) у пациентов отмечается нормализация параметров тромбообразования, однако остается повышенной активация системы фибринолиза. Клиническое значение этого факта требует дальнейшего изучения.

Литература [References]

1. Helms J., Tacquard C., Severac F., Leonard-Lorant I., Ohana M., Delabranche X. et al. CRICS TRIGGERSEP Group. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (6): 1089–98. DOI: 10.1007/s00134-020-06062-x
2. Moll M., Zon R.L., Sylvester K.W., Chen E.C., Cheng V., Connell N.T. et al. VTE in ICU patients with COVID-19. *Chest.* 2020; 158 (5): 2130–5. DOI: 10.1016/j.chest.2020.07.031
3. Chen B., Jiang C., Han B., Guan C., Fang G., Yan S. et al. High prevalence of occult thrombosis in cases of mild/moderate COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.* 2021; 104: 77–82. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.12.042
4. McBane R.D. 2nd. Arterial thrombosis and coronavirus disease 2019. *Mayo Clin. Proc.* 2021; 96 (2): 274–6. DOI: 10.1016/j.mayocp.2020.12.009
5. Carsana L., Sonzogni A., Nasr A., Rossi R.S., Pellegrinelli A., Zerbi P. et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20: 1135–40. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30434-5
6. Su H., Yang M., Wan C., Yi L.X., Tang F., Zhu H.Y. et al. Renal histopathological analysis of 26 post-mortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int.* 2020; 98 (1): 219–27. DOI: 10.1016/j.kint.2020.04.003
7. Liao D., Zhou F., Luo L., Xu M., Wang H., Xia J. et al. Haematological characteristics and risk factors in the classification and prognosis evaluation of COVID-19: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol.* 2020; 7 (9): e671–8. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30217-9
8. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020; 395 (10229): 1054–62. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3
9. Wright F.L., Vogler T.O., Moore E.E., Moore H.B., Wohlauer M.V., Urban S. et al. Fibrinolysis Shutdown Correlation with Thromboembolic Events in Severe COVID-19 Infection. *J. Am. Coll. Surg.* 2020; 231 (2): 193–203.e1. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2020.05.007
10. Ranucci M., Ballotta A., Di Dedda U., Bayshnikova E., Dei Poli M., Resta M. et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18 (7): 1747–51. DOI: 10.1111/jth.14854
11. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18 (4): 844–7. DOI: 10.1111/jth.14768
12. Bowles L., Platon S., Yartey N., Dave M., Lee K., Hart D.P. et al. Lupus anticoagulant and abnormal coagulation tests in patients with COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (3): 288–90. DOI: 10.1056/NEJMc2013656
13. Von Meijenfeldt F.A., Havervall S., Adelmeijer J., Lundström A., Magnusson M., Mackman N. et al. Sustained prothrombotic changes in COVID-19 patients 4 months after hospital discharge. *Blood Adv.* 2021; 5 (3): 756–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003968
14. Bareille M., Hardy M., Douxfils J., Rouillet S., Lasne D., Levy J.H. et al. Viscoelastometric testing to assess hemostasis of COVID-19: a systematic review. *J. Clin. Med.* 2021; 10 (8): 1740. DOI: 10.3390/jcm10081740
15. Kalinskaya A., Dukhin O., Molodtsov I., Maltseva A., Sokorev D., Elizarova A. et al. Dynamics of coagulopathy in patients with different COVID-19 severity. medRxiv [Preprint]. 2020: 2020.07.02.20145284. DOI: 10.1101/2020.07.02.20145284
16. Nougier C., Benoit R., Simon M., Desmurs-Clavel H., Marcotte G., Argaud L. et al. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-COV2 associated thrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18 (9): 2215–9. DOI: 10.1111/jth.15016
17. Zuo Y., Warnock M., Harbaugh A., Yalavarthi S., Gockman K., Zuo M. et al. Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19 patients. *Sci. Rep.* 2021; 11 (1): 1580. DOI: 10.1038/s41598-020-80010-z
18. Nagashima S., Mendes M.C., Camargo Martins A.P., Borges N.H., Godoy T.M., Miggiolaro A.F.R.D.S. et al. Endothelial dysfunction and thrombosis in patients with COVID-19—brief report. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020; 40 (10): 2404–7. DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.314860
19. Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M., Haverich A., Wölte T., Laenger F. et al. Pulmonary

- vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (2): 120–8. DOI: 10.1056/NEJMoa2015432
20. Roberts L.N., Whyte M.B., Georgiou L., Giron G., Czuprynska J., Rea C. et al. Postdischarge venous thromboembolism following hospital admission with COVID-19. *Blood.* 2020; 136 (11): 1347–50. DOI: 10.1182/blood.2020008086
21. Giannis D., Allen S.L., Tsang J., Flint S., Pinhasov T., Williams S. et al. Postdischarge thromboembolic outcomes and mortality of hospitalized patients with COVID-19: the CORE-19 registry. *Blood.* 2021; 137 (20): 2838–47. DOI: 10.1182/blood.2020010529
22. Spyropoulos A.C., Anderson F.A., Jr., FitzGerald G., Decousus H., Pini M., Chong B.H. et al. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE. *Chest.* 2011; 140 (3): 706–14. DOI: 10.1378/chest.10-1944
23. Spyropoulos A.C., Lipardi C., Xu J., Peluso C., Spiro T.E., De Sanctis Y. et al. Modified IMPROVE VTE risk score and elevated D-dimer identify a high venous thromboembolism risk in acutely ill medical population for extended thromboprophylaxis. *TH Open.* 2020; 4 (1): e59–65. DOI: 10.1055/s-0040-1705137
24. Cohen A.T., Harrington R.A., Goldhaber S.Z., Hull R.D., Wiens B.L., Gold A. et al. Extended thromboprophylaxis with betrixaban in acutely ill medical patients. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375 (6): 534–44. DOI: 10.1056/NEJMoa1601747
25. National Institutes of Health. Antithrombotic therapy in patients with COVID-19. Updated May 12, 2020.
26. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 11 (07.05.2021). [Ministry of Health of the Russian Federation. Interim guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19). Version 11 (05.07.2021) (in Russ.).]
27. Huang C., Huang L., Wang Y., Li X., Ren L., Gu X. et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.* 2021; 397 (10270): 220–32. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8
28. Garrigues E., Janvier P., Kherabi Y., Le Bot A., Hamon A., Gouze H. et al. Post-discharge persistent symptoms and health-related quality of life after hospitalization for COVID-19. *J. Infect.* 2020; 81 (6): e4–6. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.08.029
29. Prescott H.C., Angus D.C. Enhancing recovery from sepsis: a review. *JAMA.* 2018; 319 (1): 62–75. DOI: 10.1001/jama.2017.17687
30. Liu M., Lv F., Huang Y., Xiao K. Follow-up study of the chest ct characteristics of COVID-19 survivors seven months after recovery. *Front. Med. (Lausanne).* 2021; 8: 636298. DOI: 10.3389/fmed.2021.636298
31. Miskowiak K.W., Johnsen S., Sattler S.M., Nielsen S., Kunalan K., Rungby J., Lapperre T., Porsberg C.M. Cognitive impairments four months after COVID-19 hospital discharge: pattern, severity and association with illness variables. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2021; 46: 39–48. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2021.03.019
32. Townsend L., Dowds J., O'Brien K., Sheill G., Dyer A.H., O'Kelly B. et al. Persistent poor health after COVID-19 is not associated with respiratory complications or initial disease severity. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2021; 18 (6): 997–1003. DOI: 10.1513/AnnalsATS.202009-1175OC
33. Mandal S., Barnett J., Brill S.E., Brown J.S., Denny E.K., Hare S.S. et al. 'Long-COVID': a cross-sectional study of persisting symptoms, biomarker and imaging abnormalities following hospitalisation for COVID-19. *Thorax.* 2021; 76 (4): 396–8. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-215818
34. Venturelli S., Benatti S.V., Casati M., Binda F., Zuglian G., Imeri G. et al. Surviving COVID-19 in Bergamo province: a post-acute outpatient re-evaluation. *Epidemiol. Infect.* 2021; 149:e32. DOI: 10.1017/S0950268821000145
35. Townsend L., Fogarty H., Dyer A., Martin-Loeches I., Bannan C., Nadarajan P. et al. Prolonged elevation of D-dimer levels in convalescent COVID-19 patients is independent of the acute phase response. *J. Thromb. Haemost.* 2021; 19 (4): 1064–70. DOI: 10.1111/jth.15267
36. Magomedov A., Zickler D., Karaivanov S., Kurreck A., Münch F.H., Kamhieh-Milz J. et al. Viscoelastic testing reveals normalization of the coagulation profile 12 weeks after severe COVID-19. *Sci. Rep.* 2021; 11 (1): 13325. DOI: 10.1038/s41598-021-92683-1

Вклад авторов: Артемьева Г.А. — отбор, обследование и лечение пациентов, сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи; Калининская А.И. — разработка дизайна исследования, обработка, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного содержания; Мальцева А.С. — проведение лабораторных тестов; Артемьев А.И. — статистическая обработка данных, подготовка иллюстраций; Розин А.Н. — отбор, обследование и лечение пациентов, утверждение рукописи для публикации; Лебедева А.Ю. — отбор, обследование и лечение пациентов, утверждение рукописи для публикации; Васильева Е.Ю. — разработка дизайна исследования, проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации.

Contribution: Artem'eva G.A. — patients screening, diagnostic and treatment, material collection and processing, formal analysis and investigation, resources, writing original draft; Kalinskaya A.I. — study concept and design, formal analysis and investigation, supervision and validation; Mal'tseva A.S. — performing laboratory tests; Artem'ev A.I. — statistical data processing, visualization; Rozin A.N. — patients screening, diagnostic and treatment, approval of the final version; Lebedeva A.Yu. — patients screening, diagnostic and treatment, approval of the final version; Vasilieva E.Yu. — study concept and design, supervision and validation, approval of the final version.