

УДК 612.115.3-615.273.53

РОЛЬ P-СЕЛЕКТИНА В РАЗВИТИИ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19

© 2022 г. М. Г. Голубева*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: Mgolubeva46@mail.ru

Поступила в редакцию 04.12.2021 г.

После доработки 18.12.2021 г.

Принята к публикации 18.12.2021 г.

В настоящем обзоре приводятся данные по изучению влияния нового заболевания COVID-19 на свертывание крови. Важной особенностью патогенеза этого тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом SARS-CoV-2, является риск тромботических осложнений — от микроваскулярного тромбоза и венозной тромбоэмболии до инсульта. Эти тромботические осложнения так же, как тромбоцитопения, являются маркерами тяжелой формы COVID-19 и связаны с полиорганной недостаточностью и повышенной смертностью. Одним из центральных механизмов данной патологии является нарушение регуляции адгезивного белка P-селектина. Изучение сосудистой патологии, механизмов изменений гемостаза и роли в этих процессах биомаркеров тромбоза, прежде всего P-селектина различного происхождения (тромбоциты, эндотелиальные клетки, плазма), может внести определенную ясность в понимание патогенеза и в разработку эффективных методов терапии COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, гемостаз, P-селектин, фибринолиз, коагулопатия

DOI: 10.31857/S004213242202003X

ВВЕДЕНИЕ

Огромное количество публикаций, связанных с пандемией COVID-19, свидетельствует о стремлении исследователей найти действенные методы в лечении этого тяжелейшего заболевания. У многих пациентов, инфицированных коронавирусом-2 (SARS-CoV-2), развивается синдром, который соответствует берлинскому определению острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), характеризующегося очень высокой смертностью (Zhou et al., 2020). Приток полиморфоядерных клеток во внесосудистые отделы легких считается определяющей характеристикой этого заболевания, патогенез которого все еще находится в стадии изучения. Особое внимание уделяется изменениям параметров гемостаза: свертыванию крови и фибринолизу (Coccheri, 2021). На данный момент считается, что изменения в системе гемостаза являются решающими, особенно при тяжелых случаях заболевания. При COVID-19 наблюдается массивный микротромбоз, сочетающийся с усилением и воспалением, и иммунной реакции по типу цитокинового шторма — такого состояния иммунной системы, при котором она вместо защиты повреждает собственные ткани. Тромботическая микроангиопатия приводит к деструкции альвеол легких и об-

структивному неангеогенезу. Этому способствуют изменения в системе фибринолиза, которые могут приводить как к активации, так и к ингибированию фибринолитических механизмов. При снижении фибринолитической активности происходит усиление устойчивости микротромбов. Именно тромботические осложнения являются наиболее опасными при данном заболевании. Если в 2002–2004 гг. при эпидемии коронавирусной инфекции SARS-CoV-1 частота тромботических осложнений составляла 11–20%, то их частота при COVID-19 достигает 79% (Kichloo et al., 2020). Эти цифры настораживают и свидетельствуют о том, что необходимо более детально изучать причины и механизмы столь массивных тромботических осложнений и совершенствовать методы их лечения.

Коронавирусы составляют обширное семейство из 40 вирусов, 7 из которых вызывают заболевания у человека (Беяков и др., 2020). Штаммы человеческого коронавируса, вызвавшие эпидемию SARS-CoV-1 и пандемию COVID-19, относятся к роду бета-коронавирусов. В структуре коронавируса участвуют четыре белка — белки шипа (S), мембраны (M), оболочки (E) и нуклеокапсида (N). При попадании в дыхательные пути человека белок шипа S связывается с рецептором ангио-

тензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), который высоко экспрессируется пневмоцитами легочного типа 2, сердечными миоцитами и эндотелиальными клетками сосудов. Сначала фрагмент S-белка вируса прочно связывается с рецептором клетки хозяина АПФ2 и затем благодаря трансмембранной протеазе TMPRSS2 этот связанный фрагмент отщепляется, а вирус вместе с оставшейся частью S-белка проникает в клетку хозяина, чтобы использовать ее для собственной репликации (Hoffman et al., 2020). Проникновение SARS-CoV-2 в клетку запускает апоптоз, что в конечном итоге приводит к фагоцитозу апоптотической клетки, особенно макрофагами. Все это обуславливает активацию иммунного ответа и увеличение высвобождения медиаторов воспаления, включая IL-6, IL-10, G-CSF и TNF- α (Смирнов, Тотолян, 2020; Kichloo et al., 2020). Полный геном SARS-CoV-2 уже достаточно изучен – первая публикация была сделана китайскими органами здравоохранения вскоре после обнаружения вируса, что облегчило процесс диагностики и идентификации возбудителя инфекции. SARS-CoV-2 – одноцепочечный РНК-содержащий вирус – относится к семейству Coronaviridae группы 2b бета-коронавирусов и имеет по меньшей мере 70% сходства в генетической последовательности с SARS-CoV-1, его размер составляет около 100 нм (Беляков и др., 2020).

Вероятность заражения людей зависит от экспрессии рецепторов АПФ2, которая неодинакова в разных тканях и коррелирует с показателями возраста, пола и расы. Установлено, что мужчины болеют чаще женщин, что может быть связано как с расположением гена АПФ2 в X-хромосоме, так и с активирующим влиянием тестостерона на экспрессию АПФ2 (Хирманов, 2021). Отмечается также, что хронические заболевания сердца, легких, сахарный диабет, онкологические заболевания приводят к усилению экспрессии АПФ2, к увеличению риска заболевания и к усугублению тяжести его течения.

Особое внимание клиницистов и патофизиологов привлекают описания аутопсий пациентов, умерших от этого заболевания. Исследования показывают, что венозная тромбоэмболия (ВТЭ) встречается примерно у 30% пациентов с COVID. Среди случаев ВТЭ тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) наблюдается в 26% и с высокой вероятностью приводит к смерти (Coccheri, 2020). Показан обширный микротромбоз, преобладающий в легких и связанный с тяжелой, часто летальной, дыхательной недостаточностью. Микротромбозы также наблюдаются в других органах – в почках, мозге и пр. Но именно микротромбоз легких, по-видимому, в наибольшей мере связан с обострением тяжелой дыхательной недостаточности, приводящей к смерти. ТЭЛА и микротромбоз могут возникать как сопутствующие,

раздельные или последовательные явления у одного и того же пациента. При биопсии легких отмечается повреждение клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов, моноцитов, тромбоцитов) и нитей фибрина и внутриальвеолярные кровоизлияния. В легких пациентов с COVID-19 наблюдаются тяжелые эндотелиальные повреждения, связанные с присутствием внутриклеточного вируса и поврежденными клеточными мембранами. Гистологический анализ легочных сосудов у пациентов с этим заболеванием показывает распространенный тромбоз с микроангиопатией. Микротромбы альвеолярных капилляров наблюдаются в 9 раз чаще у пациентов с COVID-19, чем у пациентов с гриппом ($p < 0.001$). В легких пациентов с COVID-19 усиливается ангиогенез, при этом рост новых сосудов в 2.7 раза интенсивнее, чем в легких пациентов с гриппом ($p < 0.001$), преимущественно за счет механизма инвагинации, а не наружного разрастания, что приводит к быстрой окклюзии альвеол изнутри (Ackermann et al., 2020).

Вызывает беспокойство тот факт, что в описываемых сериях это осложнение возникло у пациентов, несмотря на рутинную профилактику гепаринном. При более агрессивном варианте тромботических осложнений, наблюдаемых в летальных случаях, отмечается обширный микротромбоз обоих легких, распространяющийся на всю респираторную область (Raj et al., 2021). Более подробное наблюдение выявило диффузное и тяжелое эндотелиальное и альвеолярное повреждение с нарушением альвеолярных мембран, периальвеолярную микроангиопатию и широко распространенный микротромбоз с внутриальвеолярными кровоизлияниями.

СИСТЕМА ФИБРИНОЛИЗА И ЕЕ РОЛЬ В НАРУШЕНИЯХ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19

Понятно, что в нарушениях гемостаза и в усилении свертывающего потенциала крови важная роль должна быть отведена фибринолитической системе, которая связана не только со свертыванием крови, но также с ренин-ангиотензиновой системой (РАС). Фактически, основной компонент РАС – АПФ2 – действует как естественный рецептор для SARS-CoV-2 и других подобных вирусов. После связывания вируса с АПФ2 в избытке остается ангиотензин II, который действует как мощный стимулятор PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1) – основной ингибитор фибринолиза. В то же время повышенный уровень брадикинина стимулирует основной естественный фибринолитический агент, тканевый активатор плазминогена (ТПА) (Kwaan, 2020). Таким образом, фибринолиз может претерпевать одновременно усиление или активации ТПА, или ингибирования PAI-1, вызывая протромботическое или про-

геморрагическое состояние в зависимости от участков и фаз биологического процесса. Именно усилением локально повышенной активности ТАП могут объясняться внутриальвеолярные кровотечения, тогда как фазы или участки с повышенной ингибирующей активностью PAI-1 могут способствовать сохранению или стимуляции микротромбоза и приводить к фиброзу легких. Некоторые авторы продемонстрировали полное отключение фибринолиза в крови с тяжелым COVID-19 (Wright et al., 2020). Таким образом, нестабильный баланс между активацией и ингибированием фибринолиза может объяснять сосуществование тромботических и геморрагических признаков в легких и в других органах, а термин “легочный тромбоз” в настоящее время можно отнести к вызванному COVID-19 микротромбозу легких (Thachil, Srivastava, 2020).

P-СЕЛЕКТИН И ЕГО РОЛЬ В ГЕМОСТАЗЕ

Селектины образуют семейство Ca^{2+} -зависимых углеводсвязывающих белков, которые опосредуют начальный этап вовлечения лейкоцитов в воспалительный процесс. Поэтому блокирование селективов считают многообещающим терапевтическим подходом к лечению острых и хронических воспалительных заболеваний. Семейство селективных включает в себя E-, L- и P-селектины (Larsen et al., 1992; Setiadi, McEver, 2008).

E-селектин — гликопротеин, находящийся на клеточной поверхности, относится к классу адгезивных белков, вырабатывается клетками эндотелия и в случае повреждения ткани, например при воспалении или инфекции, способствует прикреплению нейтрофилов из циркулирующей крови к месту повреждения. При стимуляции эндотелия, например цитокинами, данный белок вырабатывается в больших количествах и экспрессируется на клеточной поверхности. E-селектин служит клеточным рецептором к сialiриновым углеводам на поверхности нейтрофилов (Голубева, 2017).

L-селектин — гликопротеин, находящийся на клеточной поверхности лейкоцитов, представляет собой адгезивный белок. L-селектин участвует в транслокации лейкоцитов из крови в лимфоидную ткань, где они взаимодействуют с антигеном. Эндотелиальные клетки, которые экспрессируют на своей поверхности лиганды к L-селектину, задерживают лейкоциты с L-селектином, что позволяет последним мигрировать в лимфоидную ткань.

Но основную роль во взаимодействии клеток крови играет P-селектин (Кузник, 2010). Этот белок представляет собой интегральный мембранный гликопротеин, массой 140 Да, который опосредует адгезию активированных тромбоцитов и

эндотелиальных клеток к нейтрофилам и моноцитам. P-селектин синтезируется в эндотелиальных клетках и хранится в особых гранулах — тельцах Вайбеля—Паладе. В тромбоцитах P-селектин локализуется в альфа-гранулах. После связывания с родственным лигандом на лейкоцитах — гликопротеиновым лигандом P-селектина PSGL-1 (P-selectin glycosylprotein ligand 1) — P-селектин опосредует начальное движение лейкоцитов на воспаленный эндотелий, что представляет собой первый шаг в привлечении лейкоцитов к участкам воспаления (Chen, Geng, 2006; Neri et al., 2020). P-селектин также активирует моноциты для синтеза тканевого фактора — важного кофактора в активации внешнего пути свертывания крови. При воздействии стимулирующих факторов: окислительных радикалов, тромбина, цитокинов, гистамина — P-селектин появляется в атеросклеротических бляшках. Это позволяет предполагать определенную роль P-селектина в развитии атеросклероза и коронарных заболеваний сердца. Он может действовать совместно с E-селектином, осуществляя на местах на начальных этапах воспаления специфическую адгезию нейтрофилов и моноцитов в участках острого процесса. В ответ на воспалительный стимул E- и P-селектины активируются на эндотелиальных клетках и тромбоцитах (P-селектин). Помимо патогенеза множества заболеваний (инсульт, псориаз, ревматоидный артрит), селектины участвуют в метастазировании опухолей (Binder, Ernst, 2011). Благодаря P-селектину циркулирующие опухолевые клетки, несущие углеводные лиганды к нему, могут осуществлять контакты с клетками эндотелия, а также с активированными тромбоцитами в начальной стадии их агрегации.

Показано, что так же, как и E-, P-селектин появляется на поверхности эндотелиальных клеток под воздействием цитокинов IL-1 и TNF. Установлено, что при активации тромбоцитов в цельной крови также появляется P-селектин (Flebus et al., 2015). Кроме того, известно, что экспрессия P-селектина значительно увеличивается при активации тромбоцитов во время гипертонии (Liu et al., 2016). В эндотелии существует внутренний запас этого белка, который быстро экспрессируется на поверхности клетки сразу после начала воспаления. На ранней стадии воспаления P-селектин обеспечивает быструю адгезию нейтрофилов и моноцитов к активированному сосудистому эндотелию, а также лейкоцитов — к активированным тромбоцитам (Honn, Tang, 1992).

Для определения уровня экспрессии P-селектина на поверхности клеток в качестве маркера активации тромбоцитов применяют метод точной цитометрии с использованием антител, меченных различными флуоресцентными красителями (Авдушкина и др., 2012; Frenette et al., 2000). Этот метод позволяет судить о функцио-

нальной активности клеток крови и отдельных компонентов, в частности Р-селектина.

В настоящее время общепризнано, что воспаление напрямую влияет на тромбоз и что тромбоз также представляет собой провоспалительное событие. Эта прочная связь частично обусловлена Р-селектином, который функционирует не только при экспрессии на поверхности активированных тромбоцитов и эндотелиальных клеток, но и при отщеплении с образованием его растворимой формы, называемой sP-селектином. sP-селектин — гликопротеид плотных гранул тромбоцитов с молекулярной массой 190 кДа. Эта форма Р-селектина, найденная в сыворотке и плазме, является продуктом протеолиза, и, скорее всего, это растворимый фрагмент, в котором отсутствует трансмембранный участок. Однако клинические данные, связывающие sP-селектин с атерогенезом, немногочисленны и противоречивы. Тем не менее, поскольку sP-селектин находится в плазме и сыворотке, осуществляет связь между клетками крови и эндотелием, то его также можно рассматривать в качестве ценного биомаркера как для диагностики, так и для прогнозирования необходимости интенсивного лечения COVID-19.

Еще в 1990-х гг. было показано, что при связывании со своим лигандом на лейкоцитах Р-селектин опосредует начальное движение лейкоцитов к участкам воспаления (Celi et al., 1997). Главный лиганд Р-селектина, PSGL-1, представляет собой гомодимерный муцин — гомодимер 240 кДа, состоящий из двух полипептидных цепей по 120 кДа (Patrik, 2004).

Таким образом, можно сказать, что и мембранная форма (на активированных эндотелиальных клетках, активированных тромбоцитах), и растворимая форма Р-селектина являются агонистами тромботических и воспалительных процессов. При этом Р-селектин активирует моноциты для синтеза тканевого фактора (Celi et al., 1994).

Учитывая эти данные, необходимо было изучить возможную роль Р-селектина в привлечении лейкоцитов в легкие во время ОРДС (Neri et al., 2020). Инфузия моноклональных антител к Р-селектину резко снизила повреждение легких в модели ОРДС на крысах. Показано, что у людей уровень sP-селектина повышен у пациентов с ОРДС, по сравнению с контрольной группой, и у невыживших, по сравнению с выжившими. Совсем недавно в рамках общегеномного ассоциативного исследования *SELPLG* (selectin P ligand gene) авторы сообщили о значительном ослаблении повреждения легких у мышей, подвергшихся воздействию моноклональных антител к лиганду Р-селектина. *SELPLG* был признан новым геном восприимчивости к ОРДС (Bime et al., 2018; Frenette et al., 2000).

Важным аспектом клинического ведения ОРДС является раннее его распознавание для предотвращения дальнейшего повреждения легких во время искусственной вентиляции легких. Однако в настоящее время нет специфических генетических или негенетических биомаркеров для выявления тех, у кого с большей вероятностью разовьется ОРДС, или для объяснения наблюдаемых различий в состоянии здоровья. Поэтому существует потребность в идентификации маркеров повышенной восприимчивости к ОРДС. Ген *SELPLG* и кодируемый им PSGL-1 — потенциально новые терапевтические мишени для снижения патогенности ОРДС (Bime et al., 2018).

Экспрессия Р-селектина не ограничивается тромбоцитами и эндотелиальными клетками, необходимо также проверить факты экспрессии Р-селектина на пневмоцитах. Такую экспрессию наблюдали в образцах аутопсии пациента, умершего от SARS-CoV в 2002 г. (Yen et al., 2006). Эти данные согласуются с предположениями о патогенетической роли Р-селектина и заслуживают дальнейшего изучения, учитывая высокую частоту тромботических осложнений у пациентов с COVID-19. Это, в свою очередь, согласуется с опосредованной Р-селектином активацией внутрисосудистого свертывания крови.

Пандемия COVID-19 вызвала многочисленные исследования, направленные на изучение потенциальных терапевтических подходов. Необходимо учитывать, что усиление экспрессии Р-селектина эндотелиальными клетками наблюдали и ранее — оно является одной из причин повышения адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к клеткам эндотелия. Например, это показано в исследованиях, проведенных на трансгенных мышах с серповидно-клеточной анемией (Wood et al., 2004), при которой наблюдается повышение адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к клеткам эндотелия. В настоящее время рассматриваются возможности использования моноклональных антител к Р-селектину в качестве лекарственных средств. При блокаде этого белка моноклональными антителами адгезия клеток крови существенно снижается. Это показано и на изолированных сосудах пациентов с данным заболеванием. Таким образом, серповидно-клеточная анемия является тем патологическим состоянием, при котором отмечается повышенное провоспалительное и прокоагулянтное состояние в микроциркуляции, и ключевым фактором так же, как и при COVID-19, является Р-селектин (Matsu et al., 2001; Fallerini et al., 2021).

P-СЕЛЕКТИН – РАННИЙ БИОМАРКЕР ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ COVID-19

Среди госпитализированных пациентов с COVID-19 высокая частота изменений воспалительных биомаркеров и биомаркеров свертывания крови коррелирует с плохим прогнозом (Lopez-Castaneda et al., 2021). Врачами государственной больницы в Мексике проводилась оценка воспалительных и прокоагулянтных биомаркеров у пациентов с COVID-19. В плазме крови больных различной степени тяжести и здоровых добровольцев проводили анализ воспалительных и свертывающих биомаркеров, включая D-димер, IL-6 и -8, PAI-1, P-селектин и VWF (von Willebrand factor). Стандартные лабораторные и клинические биомаркеры также были включены в сравнение групп. Анализ результатов показал, что концентрации в плазме всех протромботических и провоспалительных биомаркеров были значительно выше у пациентов с летальным исходом. Значительная разница была обнаружена в уровнях IL-6, PAI-1 и P-селектина у нетяжелых больных и здоровых добровольцев, по сравнению с пациентами с тяжелым течением COVID-19 и умершими ($p < 0.001$). Уровни VWF также значимо ($p < 0.0001$) различались между группами тяжелых пациентов (153.5 ± 24.3 UI/дл) и нетяжелых (133.9 ± 20.2 UI/дл). Уровни лейкоцитов и глюкозы также были значительно повышены у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Подобные результаты были получены и в других клинических исследованиях (Agrati et al., 2021a). Авторы считают, что концентрацию P-селектина в плазме можно рассматривать как биомаркер данного заболевания.

Таким образом, центральный элемент патологии COVID-19 – это нарушение регуляции P-селектина, который является биомаркером воспалительной коагуляции, участвующим в свертывании крови, и который модулирует взаимодействие между клетками крови и эндотелиальными клетками. Он находится внутри тромбоцитов и эндотелиальных клеток, на клеточных мембранах и в растворимой форме присутствует в плазме. Он действует как рецептор адгезии, его растворимая форма (sP-селектин) играет важную роль в модулировании взаимодействия между клетками крови и эндотелиальными клетками (Venter et al., 2020). В специальном исследовании оценивали взаимосвязь между уровнем sP-селектина и клинической тяжестью инфекций COVID-19. Было показано (Karsli et al., 2021), что уровни sP-селектина в сыворотке как в группах легкой и умеренной пневмонии, так и в группе тяжелой пневмонии были выше, чем в контрольной группе ($p = 0.0001$ и $p = 0.0001$ соответственно). Авторы заключают, что sP-селектин можно использовать в качестве

ценного биомаркера и для диагностики, и для прогнозирования необходимости интенсивного лечения инфекции COVID-19.

Системное повреждение сосудов с микро/макротромбозом – это типичный признак тяжелой формы нового заболевания. При исследовании связи концентрации в плазме белков свертывания крови с возникновением ВТЭ при COVID-19 было показано, что девять белков свертывания дифференцировано экспрессировались у пациентов с тромбоэмболиями. При этом наибольшую экспрессию среди исследованных белков свертывания крови независимо от тяжести заболевания обнаруживал P-селектин. Авторы считают, что это подтверждает важность активации эндотелия в механизме ВТЭ при этом заболевании (Fenyves et al., 2021). Однако другие авторы полагают (Gelzo et al., 2021), что повреждение эндотелия менее актуально, поскольку уровень E-селектина не изменялся, в отличие от тромбоцитарного P-селектина. Тем не менее, как показывает опыт множества исследователей, у большинства пациентов наряду с коагулопатиями наблюдается эндотелиопатия, при этом отмечается необходимость проведения строгого мониторинга показателей свертывания крови пациентов с разной степенью тяжести COVID-19. Так, при измерении воспаления, факторов коагуляции и состояния эндотелия при легкой и средней степени тяжести заболевания показано (Cacciola et al., 2021), что IL-6, TNF- α , VWF, тканевой фактор (TF), ингибитор тканевого фактора (TFPI) значительно увеличиваются при умеренном заболевании так же, как D-димер, тромбин-антитромбиновый комплекс, фактор тромбоцитов P4, тромбоглобулин, P-селектин и адгезия тромбоцитов. У всех пациентов с средней тяжестью COVID-19, по сравнению с пациентами легкой формы, наблюдалось более короткое время свертывания и время образования сгустка, высокая плотность сгустка и низкий процент лизиса через 30 мин. Авторы заключают, что даже при средней степени тяжести пациенты имеют глубокое воспаление, связанное с тяжелой эндотелиопатией и патологией свертывания крови. Такой мониторинг позволит вовремя применить соответствующие антикоагулянты, улучшить прогноз умеренного COVID-19 и предотвратить развитие болезни в тяжелой форме.

P-селектин несомненно вносит вклад в адгезию патологических и, возможно, здоровых эритроцитов к поврежденному эндотелию, а также к соседним эритроцитам и к гиперактивированным тромбоцитам. Обнаружены (Manne et al., 2020) явные изменения в профилях экспрессии генов циркулирующих тромбоцитов у пациентов с COVID-19. Они также показали, что тромбоциты от пациентов с COVID-19 агрегируются быстрее и увеличивают распространение фибриногена и коллагена. Кроме того, авторы предположили,

что увеличение активации и агрегации тромбоцитов может частично быть связано с генерацией тромбосана.

На основании изученной литературы можно предположить, что существует причинно-следственная связь между повышенными концентрациями сывороточного ферритина и P-селектина, гиперактивацией тромбоцитов и их взаимодействием с эритроцитами (Grobler et al., 2020; Venter et al., 2020). Об участии железа в развитии патологий, возникающих при COVID-19 написано уже много, поэтому мы здесь только отметим, что уровень ферритина в сыворотке крови повышен в образцах крови при COVID-19, поскольку он известен как маркер поврежденных клеток (Venter et al., 2020). Его присутствие в кровотоке может вызвать патологию эритроцитов, тромбоцитов, а также фибриногена плазмы. Таким образом, P-селектин, сывороточный ферритин и патологические изменения клеток крови, помимо тромботических осложнений, могут способствовать снижению уровня насыщения кислородом, обычно наблюдаемому при COVID-19.

При изучении экспрессии некоторых трансмембранных белков в тромбоцитах показано, что во время инфекции SARS-CoV-2 обнаружено значительное увеличение экспрессии этих белков, по сравнению с контролем. Наличие таких тромбоцитов (гиперактивный фенотип) способствовало гиперкоагуляции (Bongiovanni et al., 2021).

Анализируя огромный пласт литературы, мы приходим к заключению, что в патологии при COVID-19 ведущую роль играет гиперактивность тромбоцитов. Прогрессирующая дыхательная недостаточность рассматривается как основная причина смерти пациентов с COVID-19 и может быть в значительной степени связана с микротромбами в системе кровообращения и, в частности, в легких. P-селектин может быть важным ранним маркером риска тяжелых сосудистых заболеваний. Наблюдения за структурными изменениями в плазме, в ходе которых наблюдаются микросгустки и крупные агрегаты тромбоцитов, могут помочь клиницистам планировать антикоагулянтную терапию на ранних этапах медицинской помощи (Venter et al., 2020).

Новые данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2 может инфицировать эндотелиальные клетки со связанным иммунным ответом и с последующей активацией воспалительных путей, что приводит к нарушению регуляции эндотелия, активации лейкоцитов, отложению компонента и потреблению тромбоцитов.

Задача состоит в том, чтобы быстро найти терапевтические подходы для срочной помощи пациентам с COVID-19. Ключевым клиническим признаком тяжелой формы заболевания, по-видимому, является сильное протромботическое

состояние, которое связано с повышенной частотой артериальных, венозных и микрососудистых тромбозов, а также с летальными исходами. Эти пути могут спровоцировать протромботическое состояние (иммунотромбоз), которое может привести к серьезным тромботическим осложнениям. Агрегаты тромбоцитов/лейкоцитов могут представлять собой маркеры противовоспалительной эффективности антитромботических препаратов (McFadyen et al., 2020). Важно отметить, что переход к раннему введению антитромботической терапии для профилактики и лечения тромбоза, связанного с COVID-19, приведет к улучшению результатов для пациентов с COVID-19. Примером может служить антиагрегант клопидогрель или плавикс, который отличается от других антитромботических агентов, поскольку он, по-видимому, более эффективно блокирует экспрессию P-селектина на поверхности тромбоцитов, чем аспирин или ингибиторы рецепторов GPIIb/IIIa, и снижает агрегацию тромбоцитов/лейкоцитов (Klinkhardt et al., 2002, 2003). Успех следующего поколения антитромботических агентов, вероятно, будет зависеть от их способности предотвращать активацию тромбоцитов.

Помимо антиагрегантов, свою высокую эффективность обнаружили и антикоагулянты, успешно применяемые сейчас в клинической практике, в частности антикоагулянт прямого действия, ингибирующий фактор Ха, – Ксарелто, или ривароксабан. Известно, что в каскаде свертывания крови активация фактора X с образованием фактора Ха (FXa) через внутренний и внешний пути играет центральную роль. FXa напрямую преобразует протромбин в тромбин благодаря протромбиназному комплексу, что, в конечном счете, приводит к образованию фибринового сгустка и активации тромбоцитов посредством тромбина. Одна молекула FXa способна образовать более 1000 молекул тромбина. Кроме того, скорость реакции FXa, связанного с протромбиназой, увеличивается в 300000 раз, по сравнению с таковой свободного FXa, что вызывает взрывное усиление образования тромбина – именно этот “взрыв” и способны прекратить селективные ингибиторы FXa, что, следовательно, снижает и активацию тромбоцитов (<https://www.vidal.ru>).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ обширной литературы о значении P-селектина в развитии тяжелых, часто летальных, нарушений в системе свертывания крови и функциональной активности клеток эндотелия предполагает центральную роль взаимодействия эндотелия и тромбоцитов как части сложного патогенного механизма COVID-19, ведущего к локальной активации системы гемостаза и формирующей легочные тромбы. Как полагают (Agrati et al.,

2021b), необходимы более крупномасштабные исследования для изучения значимости P-селектина в качестве маркера активации тромбоцитов и эндотелия для определения степени риска и неблагоприятных прогностических исходов. Этот тип исследования предлагает возможность раскрыть механизмы, управляющие активацией тромбоцитов и повреждением эндотелия, а также определить конкретные методы лечения, направленные на минимизацию активации эндотелия и снижение риска тромбоза. Тем не менее, существующая литература о роли P-селектина у пациентов с COVID-19 предполагает, что он может быть ценным биомаркером для прогнозирования клинических исходов у пациентов с этим заболеванием. Основываясь на опыте многочисленных клиник и понимая всю трудность стандартизации методов и результатов исследований, можно видеть, что увеличение экспрессии P-селектина на поврежденных эндотелиальных клетках и активированных тромбоцитах способствует протромботическому состоянию, которое приводит к иммунотромбозу и тромбовоспалению (Agrati et al., 2021b).

Клинический опыт свидетельствует о том, что использование лекарственных препаратов (антикоагулянты, антиагреганты) может быть полезным при лечении пациентов с COVID-19 и они могут быть включены в протоколы лечения. К таким препаратам можно отнести аспирин и курантил, или дипиридамолом.

Дипиридамолом (DIP) – это антиагрегантный препарат, который действует путем ингибирования фосфодиэстеразы и повышения внутриклеточных уровней цАМФ/цГМФ (Голубева, 2020). Добавка DIP была связана со значительно более низкими концентрациями D-димера, большим количеством лимфоцитов и тромбоцитов в кровотоке. Это заметно улучшило клинические результаты в эксперименте с участием 31 пациента с COVID-19, по сравнению с контрольными пациентами (Liu et al., 2020). Однако эффективность DIP у госпитализированных пациентов с COVID-19 требует дальнейшего изучения.

Аспирин – это недорогой, известный с 1890 г., широко доступный препарат, который в низких дозах необратимо ингибирует фермент циклооксигеназу-1 (ЦОГ-1), необходимый для образования тромбоксана A₂ и провоспалительных простагландинов (Голубева, 2020). Продемонстрировано, что аспирин предотвращает как артериальные, так и венозные тромботические явления у людей, инфицированных SARS-CoV-2, и устраняет гиперактивность тромбоцитов *in vitro* (Baigent et al., 2009; Manne et al., 2020). Хотя влияние аспирина на клинические исходы у пациентов с внебольничной пневмонией было изучено, и были получены предварительные результаты о его потенци-

альной полезности для снижения смертности, данных об эффективности антитромботических препаратов при COVID-19 явно недостаточно (Chow et al., 2021). Кроме того, любая потенциальная польза от антитромботического лечения пациентов с COVID-19 может зависеть от времени начала лечения, особенно если тромбы уже образовались к моменту госпитализации. Работа ведется по нескольким направлениям. Так, некоторые фармацевтические компании и исследовательские центры пытаются разработать новые лекарства для борьбы с COVID-19. Но другие стараются определить, можно ли эффективно перепрофилировать какие-либо уже существующие препараты.

Основные трудности, возникающие перед клиницистами при лечении пациентов с этим новым заболеванием, связаны, прежде всего, с наличием мутаций коронавируса. Появление новых штаммов требует быстрого изменения тактики лечения, усиления контроля для снижения контактов между инфицированными, поиска новых препаратов для помощи пациентам и объединения усилий медиков разных стран для борьбы с пандемией.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты проводили в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF), и с декларацией о гуманном отношении к животным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авдушкина Л.А., Бычкова Н.В., Вавилова Т.В. Новый маркер активации тромбоцитов P-селектин // Никифоровские чтения – 2012: передовые отечественные и зарубежные медицинские технологии / Ред. С.С. Алексанин. СПб.: Политехника-сервис, 2012. С. 10–11.
- Беляков Н.А., Рассохин В.В., Ястребова Е.Б. Природа вируса, патогенез, клинические проявления // Коронавирусная инфекция. Лекция. Ч. 1. 2020. С. 1–18.
- Голубева М.Г. Современные представления о влиянии эритроцитов на реактивность тромбоцитов в процессе тромбиногенеза // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 6. С. 586–592.
- Голубева М.Г. Нейропептид вазопрессин и его структурные аналоги в регуляции системы гемостаза. М.: Ким Л.А., 2020. 144 с.
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 827 с.

- Смирнов В.С., Толоян А.А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции // Инфек. иммун. 2020. Т. 10. № 2. С. 259–268.
- Хирманов В.Н. COVID-19 как системное заболевание // Клини. фарм. терап. 2021. № 3. С. 1–15.
- Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M. et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 // N. Engl. J. Med. 2020. V. 383. № 2. P. 120–128.
- Agrati Ch., Bordoni V., Sacchi A. et al. Elevated P-selectin in severe Covid-19: considerations for therapeutic options // Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis. 2021a. V. 13. № 1. P. e2021016.
- Agrati Ch., Sacchi A., Tartaglia E. et al. The role of P-selectin in COVID-19 coagulopathy: an updated review // Int. J. Mol. Sci. 2021b. V. 22. № 5. P. 7942.
- Baigent C., Blackwell L., Collins R. et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials // Lancet. 2009. V. 373. P. 1849–1860.
- Bime C., Pouladi N., Sammani S. et al. Genome-wide association study in African Americans with acute respiratory distress syndrome identifies the selectin P ligand gene as a risk factor // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2018. V. 197. P. 1421–1432.
- Binder F.P.C., Ernst B. E- and P-selectin: differences, similarities and implications for the design of P-selectin antagonists // Chimia (Aarau). 2011. V. 65. № 4. P. 210–213.
- Bongiovanni D., Klug M., Lazareva O. et al. SARS-CoV-2 infection is associated with a pro-thrombotic platelet phenotype // Cell Death Dis. 2021. V. 12. № 1. P. 50.
- Cacciola R., Cacciola E.G., Vecchio V., Cacciola E. Cellular and molecular mechanisms in COVID-19 coagulopathy: role of inflammation and endotheliopathy // J. Thromb. Thrombolysis. 2021. V. 23. P. 1–9.
- Celi A., Pellegrini G., Lorenzet R. et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes // PNAS USA. 1994. V. 91. P. 8767–8771.
- Celi A., Lorenzet R., Furie B., Furie B.C. Platelet-leukocyte-endothelial cell interaction on the blood vessel wall // Semin. Hematol. 1997. V. 34. P. 327–335.
- Chen M., Geng J. P-selectin mediates adhesion of leukocytes, platelets, and cancer cells in inflammation, thrombosis, and cancer growth and metastasis // Arch. Immunol. Ther. Exp. 2006. V. 54. № 2. P. 75–84.
- Chow J.H., Khanna A.K., Kethireddy S. et al. Aspirin use is associated with decreased mechanical ventilation, intensive care unit admission, and in-hospital mortality in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 // Anesth. Analg. 2021. V. 132. P. 930–941.
- Coccheri S. COVID-19: the crucial role of blood coagulation and fibrinolysis // Intern. Emerg. Med. 2021. V. 16. P. e253.
- Fallerini C., Daga S., Benetti E. et al. SELP Asp603Asn and severe thrombosis in COVID-19 males // J. Hematol. Oncol. 2021. V. 14. № 1. P. 123.
- Fenyves B.G., Mehta A., Kays K.R. et al. Plasma P-selectin is an early marker of thromboembolism in COVID-19 // Am. J. Hematol. 2021. V. 96. № 12. P. E468–E471.
- Flebus L., Lombart F., Martines-Jothar I. et al. In vitro study of the specific interaction between poly(2-dimethylamino ethylmethacrylate) based polymers with platelets and red blood cells // Int. J. Pharm. 2015. V. 492. № 1–2. P. 55–64.
- Frenette P.C.V., Denis C.V., Weiss D.L. et al. P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions *in vivo* // J. Exp. Med. 2000. V. 191. № 8. P. 1413–1422.
- Gelzo M., Cacciapuoti S., Pinchera B. et al. Further findings concerning endothelial damage in COVID-19 patients // Biomolecules. 2021. V. 11. № 9. P. 1368.
- Grobler C., Maphumulo S.C., Grobbelaar L.M. et al. Covid-19: the rollercoaster of fibrin(ogen), D-dimer, von Willebrand factor, P-selectin and their interactions with endothelial cells, platelets and erythrocytes // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. P. 5168.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // Cell. 2020. V. 181. № 2. P. 271–280.
- Honn K., Tang D. Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix // Canc. Metast. Rev. 1992. V. 11. № 3–4. P. 353–375.
- Karsli E., Sabirli R., Altintas E. et al. Soluble P-selectin as a potential diagnostic and prognostic biomarker for COVID-19 disease: a case-control study // Life Sci. 2021. V. 277. P. 119634.
- Kichloo A., Dettloff K., Aljadah M. et al. COVID-19 and hypercoagulability: a review // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2020. V. 26. P. 1–9.
- Klinkhardt U., Graff J., Harder S. Clopidogrel, but not aspirin, reduces platelet leukocyte conjugates and P-selectin expression in a human *ex vivo in vitro* model // Clin. Pharmacol. Ther. 2002. V. 71. № 3. P. 176–185.
- Klinkhardt U., Bauersachs R., Adams J. et al. Clopidogrel but not aspirin reduces P-selectin expression and formation of platelet-leukocyte aggregates in patients with atherosclerotic vascular disease // Clin. Pharmacol. Ther. 2003. V. 73. № 3. P. 232–241.
- Kwaan H.C. Coronavirus disease 2019: the role of the fibrinolytic system from transmission to organ injury and sequelae // Semin. Thromb. Hemost. 2020. V. 46. № 7. P. 841–844.
- Larsen G.R., Sako D., Ahern T.J. et al. P-selectin and E-selectin. Distinct but overlapping leucocyte ligand specificities // J. Biol. Chem. 1992. V. 267 (16). P. 11104–11110.
- Liu G., Liang B., Song X. et al. P-selectin increases angiotensin II-induced cardiac inflammation and fibrosis *via* platelet activation // Mol. Med. Rep. 2016. V. 13. № 6. P. 5021–5028.
- Liu X., Li Z., Liu S. et al. Potential therapeutic effects of dipyridamole in the severely ill patients with COVID-19 // Acta Pharm. Sin. B. 2020. V. 10. P. 1205–1215.
- Lopez-Castaneda S., Garcia-Larragoiti N., Cano-Mendez A. et al. Inflammatory and prothrombotic biomarkers associated with the severity of COVID-19 infection // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2021. V. 27. P. 1–34.
- Manne B.K., Denorme F., Middleton E.A. et al. Platelet gene expression and function in COVID-19 patients // Blood. 2020. V. 136. P. 1317–1329.

- Matsu N.M., Borsig L., Rosen S.D. et al.* P-selectin mediates the adhesion of sickle erythrocytes to the endothelium // *Blood*. 2001. V. 98. № 6. P. 1955–1962.
- McFadyen J.D., Hannah S., Karlheinz P.* The emerging threat of (micro)thrombosis in COVID-19 and its therapeutic implications // *Circ. Res.* 2020. V. 127. № 4. P. 571–587.
- Neri T., Neri D., Celi A.* P-selectin blockade in COVID-19-related ARDS // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2020. V. 318. № 6. P. L1237–L1238.
- Patrick A.* P-selectin in haemostasis // *Brit. J. Haematol.* 2004. V. 126. № 3. P. 298–306.
- Raj K., Chandna S., Doukas S.G. et al.* Combined use of wells scores and D-dimer levels for the diagnosis of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in COVID-19: a retrospective cohort study // *Cureus*. 2021. V. 13. № 9. P. 1–27.
- Setiadi H., McEver R.* Clustering endothelial E-selectin in clathrin-coated pits and lipid rafts enhances leukocyte adhesion under flow // *Blood*. 2008. V. 111. № 4. P. 1989–1998.
- Thachil J., Srivastava A.* SARS-2 coronavirus-associated hemostatic lung abnormality in COVID-19: is it pulmonary thrombosis or pulmonary embolism? // *Semin. Thromb. Haemost.* 2020. V. 46. № 7. P. 777–780.
- Venter C., Bezuidenhout J., Laubscher G.J. et al.* Erythrocyte, platelet, serum ferritin, and P-selectin pathophysiology implicated in severe hypercoagulation and vascular complications in COVID-19 // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 21. P. 8234.
- Wood K.C., Hebbel R.P., Gragner D.N.* Endothelial cell P-selectin mediates a proinflammatory and prothrombotic phenotype in cerebral venules of sickle cell transgenic mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V. 286. P. 1608–1614.
- Wright F.L., Vogler T.O., Moore E.E. et al.* Fibrinolysis shutdown correlates to thrombotic events in severe COVID-19 infection // *J. Am. Coll. Surg.* 2020. V. 231. № 2. P. 193–203.
- Yen Y.T., Liao F., Hsiao C.H. et al.* Modeling the early events of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection *in vitro* // *J. Virol.* 2006. V. 80. P. 2684–2693.
- Zhou F., Yu T., Du R. et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // *Lancet*. 2020. V. 395. P. 1054–1062.

Role of P-Selectin in the Development of Hemostasis Disorders in COVID-19

M. G. Golubeva*

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

**e-mail: Mgolubeva46@mail.ru*

This review provides data on the impact of the new disease COVID-19 on blood clotting. An important feature of the pathogenesis of this severe acute respiratory syndrome caused by the SARS-Co-2 coronavirus is the risk of thrombotic complications ranging from microvascular thrombosis, venous thromboembolism and stroke. These thrombotic complications, like thrombocytopenia, are markers of the severe form of COVID-19 and are associated with multiple organ failure and increased mortality. One of the central mechanisms of this pathology is the dysregulation of the adhesive protein P-selectin. The study of the mechanisms of changes in hemostasis and vascular pathology, and the role in these processes of biomarkers of thrombogenesis, and primarily of P-selectin of various origins (platelets, endothelial cells, plasma), can bring some clarity to the understanding of the pathogenesis and therapy of COVID-19.

Keywords: COVID-19, hemostasis, P-selectin, fibrinolysis, coagulopathy