

УДК 612.115:578.834.1

АКТИВАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ И МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТРОМБОЭМБОЛИЙ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ COVID-19. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

© 2023 г. **Б. И. Кузник**¹, Ю. Н. Смоляков¹, *, Н. Н. Цыбиков¹, К. Г. Шаповалов¹

¹Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

*e-mail: smolyakov@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.03.2023 г.

После доработки 04.05.2023 г.

Принята к публикации 05.05.2023 г.

В обзоре освещается механизм развития гиперкоагуляции и тромбообразования при тяжелых формах течения COVID-19. Внедрение в организм хозяина SARS-CoV-2 осуществляется при взаимодействии шиповидного белка S с ангиотензинпревращающим ферментом ACE2, находящимся в альвеолоцитах 2-го типа, эндотелии сосудов, почках, печени и других органах. В случае развития тяжелого состояния у больных COVID-19 активируется как неспецифический, так и адаптивный иммунитет. Стимуляция системы комплемента с появлением фрагментов C3a, C3b, C5a и мембраноатакующего комплекса создает условия для развития гиперкоагуляции. Вовлечение в этот процесс ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и появление ангиотензина 2 (Ang II) еще сильнее увеличивает интенсивность гиперкоагуляции. При внедрении SARS-CoV-2 в клетки защитная реакция адаптивной иммунной системы может превращаться в патологическую — развивается цитокиновый шторм, характеризующийся высоким уровнем провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-17 и др.) и хемокинов (CCL2, CCL11 и др.), что в конечном итоге ведет у тяжелобольных COVID-19 к развитию тромбоангиопатии или, иначе, имунотромбозу. У пациентов с более тяжелым поражением может развиваться состояние, подобное синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). При этом у пациентов с COVID-19 выявляется легкая тромбоцитопения, повышенный уровень фибриногена, D-димера, продуктов деградации фибриногена, что свидетельствует об интенсивном тромбообразовании, а также сокращенные показатели протромбинового времени (ПВ) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), обусловленные в значительной степени увеличенным уровнем FVIII. При COVID-19, наряду с классическим, проявляется альтернативный путь (минуя тромбин) регуляции системы гемостаза и тромбообразования, связанный в основном с влиянием шиповидного белка S SARS-CoV-2 и папаиноподобной протеазы. Шиповидный белок S непосредственно влияет на переход фибриногена в фибрин и протромбина в тромбин, а также на активацию отдельных плазменных факторов свертывания крови. Альтернативный путь свертывания крови также обусловлен активацией системы комплемента по лектиновому пути с включением металлопротеиназ MASP-1, -2, -3. Кроме того, шиповидный белок S активирует tPA, что может сопровождаться гиперфибринолизом. У тяжелобольных COVID-19 далеко не последняя роль в возникновении тромбоэмболических осложнений принадлежит тромбоцитам. В процессе реакции высвобождения тромбоциты выбрасывают из цитоплазмы в кровь α - и плотные гранулы, содержащие воспалительные цитокины и хемокины, что усиливает цитокиновый шторм и, следовательно, тромбообразование. Воздействуя на шиповидный белок S, тромбоциты запускают альтернативный механизм системы гемостаза и тромбообразования.

Ключевые слова: COVID-19, тромбоциты, шиповидный белок S, система комплемента, цитокиновый шторм, нейтрофилы, моноциты, гиперкоагуляция, тромбообразование, альтернативные механизмы

DOI: 10.31857/S0042132423040075, **EDN:** ZBIHAN

ВВЕДЕНИЕ

Вспыхнув в конце 2019 г. в г. Ухань (Китай), инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2, получившая название COronaVIrus Disease 2019 (COVID-19), вскоре охватила все континенты.

Уже в марте 2020 г. ВОЗ объявила COVID-19 пандемией. За время своего господства COVID-19 унесла во всем мире миллионы жизней. На конец 2022 г. число летальных исходов при COVID-19 во всем мире составило более 6.5 млн человек (Liang et al., 2023). Особенность SARS-CoV-2, вызвавшие-

го пандемию COVID-19, – постоянное развитие и быстрое распространение среди бессимптомных носителей с производством новых вариантов: альфа, бета, гамма, дельта, лямбда, эпсилон, зета, эта, тета, йота, каппа и омикрон, что лишний раз указывает на высокую глобальную угрозу для здоровья населения всего мира (Liang et al., 2023). Тщательный анализ (Chen, 2022) показал, что к 2023 г. COVID-19 может оказаться более смертоносным, чем сезонный грипп. Столь неутешительный прогноз связан с тем, что снизилась эффективность моновалентных вакцин в период преобладания варианта Omicron BA.4/BA.5 (Canada, 2023), а также с появлением нового подварианта Omicron XBB.1.5 (кракен), представляющего собой сублинию варианта XBB, рекомбинанта двух сублиний BA.2 с мутацией F486P в шиповидном белке, которая увеличивает инфекционность из-за повышенной аффинности связывания с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2). На 21.01.2023 г. подвариант XBB.1.5 зарегистрирован в 49.1% случаев COVID-19 в США (Parums, 2023).

Не вызывает сомнений, что основной причиной смерти при COVID-19 является острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), часто сопровождаемый тромбоэмболическими осложнениями (Grobler et al., 2020). Тяжелое течение COVID-19 сопровождается наличием различных коагулопатий, которые могут привести либо к выраженной тромбоцитопении и геморрагиям, либо к гиперкоагуляции и тромбозу. Тромбозы, тромбоэмболии и геморрагии часто возникают у лиц со слабой конституцией, множественными факторами риска и сопутствующими заболеваниями (Grobler et al., 2020).

Тромбозы являются подлинным бичом COVID-19. Тромботические осложнения, выраженные в виде сепсис-индуцированной коагулопатии, ДВС-синдрома, венозной и артериальной тромбоэмболии (ВТЭ и АТЭ), легочной эмболии, микротромбоза и тромботической микроангиопатии, поражают различные органы: легкие, сердце, почки и головной мозг (Sastri et al., 2022).

При анализе результатов 4547 исследований, насчитывающих 100949 пациентов, сделан вывод (Candeloro, Schulman, 2023), что 2641 (2.6%) из них перенесли АТЭ. Суммарная частота АТЭ составляет 2.0% (95%, ДИ 0.4–9.6%), а для острого инфаркта миокарда, острого ишемического инсульта, острой ишемии конечностей и других тромбоэмболических осложнений – 0.8% (95%, ДИ 0.1–8.1%), 0.9% (95%, ДИ 0.3–2.9%), 0.2% (95%, ДИ 0.0–2.9%), 0.5% (95%, ДИ 0.1–3.0%) соответственно.

Согласно данным (Nahum et al., 2020), распространенность тромбоза глубоких вен среди пациентов с COVID-19, находящихся в критическом

состоянии и не получавших антикоагулянтную терапию, составляет 65–79%. При патологоанатомическом вскрытии больных тромбоцитарно-фибриновые сгустки в мелких артериальных сосудах наблюдаются в 87% случаев.

Отмечено (Lippi, Favaloro, 2023), что клиническое течение COVID-19 часто осложняется возникновением венозного тромбоза, ВТЭ, тромбозов легочных артерий. При этом кумулятивная частота ВТЭ у госпитализированных пациентов с COVID-19 может достигать 30% и у больных с тяжелым течением, искусственной вентиляцией легких и поступивших в отделение реанимации и интенсивной терапии может увеличиться до 40–70%. Но даже несмотря на стандартную тромбопрофилактику, у больных COVID-19 частота тромбоэмболических осложнений колеблется от 27 до 57% (Thomas et al., 2020).

Тщательно проведенный метаанализ 27 исследований, в которых приняли участие 3342 пациента с COVID-19, показывает, что тромбоэмболия легочной артерии в общей когорте больных встречается в 16.5%, тромбоз глубоких вен – в 14.8%. При этом тромбоэмболия легочной артерии чаще диагностируется у пациентов, поступивших в отделение реанимации и интенсивной терапии, по сравнению с теми, кто лечится в общем стационаре (24.7% против 10.5%) (Suh et al., 2021).

Вместе с тем, при изучении коагулопатий у тяжелобольных COVID-19 установлено, что наряду с классическим механизмом развития тромбоэмболических осложнений, существуют и иные пути, которые следует назвать альтернативными – образование фибриновых сгустков происходит, минуя появление тромбина. Подобные реакции осуществляются под влиянием: шиповидного белка S и папаиноподобной протеазы SARS-CoV-2; действия фрагментов комплемента и мембраноатакующего комплекса; активации ренин-ангиотензин-альдостероновой и калликреин-кининовой систем; гиперстимуляции иммунного ответа, приводящего к цитокиновому шторму; металлопротеиназ (MASP-1, -2, -3); активированных нейтрофилов с образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек NETs (neutrophil extracellular traps); микровезикул различного происхождения; действия повышенной концентрации триптаза, главным образом трипсина; других пока еще мало изученных факторов (Zhang Y. et al., 2020; Grobbelaar et al., 2021). Следует заметить, что альтернативные методы свертывания крови и тромбообразования всегда протекают одновременно с внешним – через тканевый фактор TF (tissue factor) – и внутренним – через фактор FXIIa – механизмами активации системы гемостаза. Более того, оба пути – и классический, и альтернативный – тесно связаны между собой и оказывают влияние друг на друга (Кузник и др., 2023).

Вместе с тем, мы не встретили обзорных работ, в которых бы освещалась роль тромбоцитов в возникновении альтернативных путей процесса свертывания крови и фибринолиза, что и побудило нас заняться поиском и обобщением имеющейся литературы.

СТРОЕНИЕ SARS-CoV-2 И ПУТИ ЕГО ПРОНИКНОВЕНИЯ В КЛЕТКУ

Известно, что вирион SARS-CoV-2 состоит из протеинонуклеокапсида (N), мембраны, оболочки и шиповидного белка S. Этапы проникновения вирусных частиц, включая прикрепление к мембране клетки-хозяина и слияние, опосредуются наличием шиповидного гликопротеина S. Последний собирается в виде гомотримера и встраивается в виде нескольких копий в мембрану вириона, придавая ему вид, напоминающий корону. Входные гликопротеины SARS-CoV-2 в инфицированных клетках расщепляются пропротеинконвертазами (в частности фурином) на две субъединицы: внеклеточную S1 и трансмембранную S2 (Hoffmann et al., 2020; Xiao et al., 2021). При этом субъединица S1 способна связываться с ACE2, а субъединица S2 закрепляет белок S на мембране. Субъединица S2 также включает пептид слияния и другие механизмы, необходимые для обеспечения взаимосвязи мембран при инфицировании клетки. Расщепление сайта S2 трансмембранной протеазой серином 2 (TMPRSS2) на клеточной поверхности или катепсином в эндосомальном компартменте после ACE2-опосредованного эндоцитоза высвобождает пептид слияния, инициируя образование пор, приводящих к гибели клетки (Hoffmann et al., 2020; Jackson et al., 2022).

Следует подчеркнуть, что рецептор-связывающий домен RBD (receptor binding domain) тримера S образует вершину белка S, который имеет две различные конформации: “вверх” — для доступного для рецептора состояния и “вниз” — для недоступного для него положения. В состоянии после слияния конформационные изменения приводят к отделению субъединицы S1 от S2 и ее диссоциации от S2. В это время S2 подвергается каскаду событий рефолдинга с образованием стабильного и удлиненного тримера. Переход RBD из конформации “вниз” в конформацию “вверх” — критический шаг перед тем, как рецептор сможет полностью быть задействован в связи SARS-CoV-2 с ACE2. Конформация RBD “вверх”, по-видимому, является стабильным промежуточным состоянием.

Структуры растворимого S-тримера SARS-CoV-2 в комплексе с мономерным ACE2 указывают на то, что рецептор взаимодействует с RBD в его повышающей конформации (Zhou et al., 2020; Xiao et al., 2021). В то время как аминотерминал домена немного смещается наружу, субъединица S2 оста-

ется в значительной степени неизменной после связывания ACE2 (Zhou et al., 2020).

При этом белок S переходит в так называемое метастабильное состояние, склонное к трансформации, в положении с более низкой энергией, чем до слияния мембран. При этом (рис. 1) проникновение SARS-CoV-2 в клетку зависит от протеаз клетки-мишени; TMPRSS2 и катепсин L — две основные протеазы, участвующие в активации S-белка. Поскольку TMPRSS2 присутствует на клеточной поверхности, TMPRSS2-опосредованная активация S-белка происходит на плазматической мембране, а катепсин-опосредованная активация осуществляется в эндолизосомах (Jackson et al., 2022).

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ И ИММУНОТРОМБОЗА ПРИ COVID-19

Установлено, что рецепторы ACE2 в основном экспрессируются в сосудистом эндотелии, альвеолоцитах 2-го типа легких, холангиоцитах печени, ободочной кишки, кератиноцитах пищевода, эпителиальных клетках подвздошной и прямой кишки, эпителиальных клетках желудка и проксимальных канальцах почек (Qi et al., 2020).

Поступление SARS-CoV-2 в альвеолоциты 2-го типа происходит через эндоцитоз, после чего вирус размножается в цитоплазме, что сопровождается появлением стресс-белка, вызывающего апоптоз этих клеток. В то же время РНК из SARS-CoV-2 действует как патоген-ассоциированный молекулярный паттерн и распознается toll-подобными рецепторами TLRs. Это в свою очередь приводит к выбросу хемокинов, вызывающих миграцию и активацию нейтрофилов и моноцитов, что сопровождается разрушением альвеолярно-капиллярных стенок. При этом развивающийся патологический процесс в легких может приводить к потере границы между альвеолярным пространством и окружающей стромой, благодаря чему жидкость просачивается и заполняет альвеолы. Все это в конечном итоге приводит к развитию гиперкоагуляции и образованию тромбов (Kakodkar et al., 2020).

На основании изучения значительного числа источников литературы сделан вывод (Gorog et al., 2022), что патогенез коагулопатии при COVID-19 характеризуется значительной сложностью. После проникновения SARS-CoV-2 в эндотелиальную клетку (рис. 2) путем связывания с рецептором ACE2 его ферментативная активность снижается, что приводит к повышению проницаемости сосудов и экспрессии TF в субэндотелиальных клетках, в лейкоцитах и тромбоцитах. Все это запускает процесс коагуляции. ACE2 может оказывать антитромботическое действие с помощью различных механизмов, включая ренин-ангиотензи-

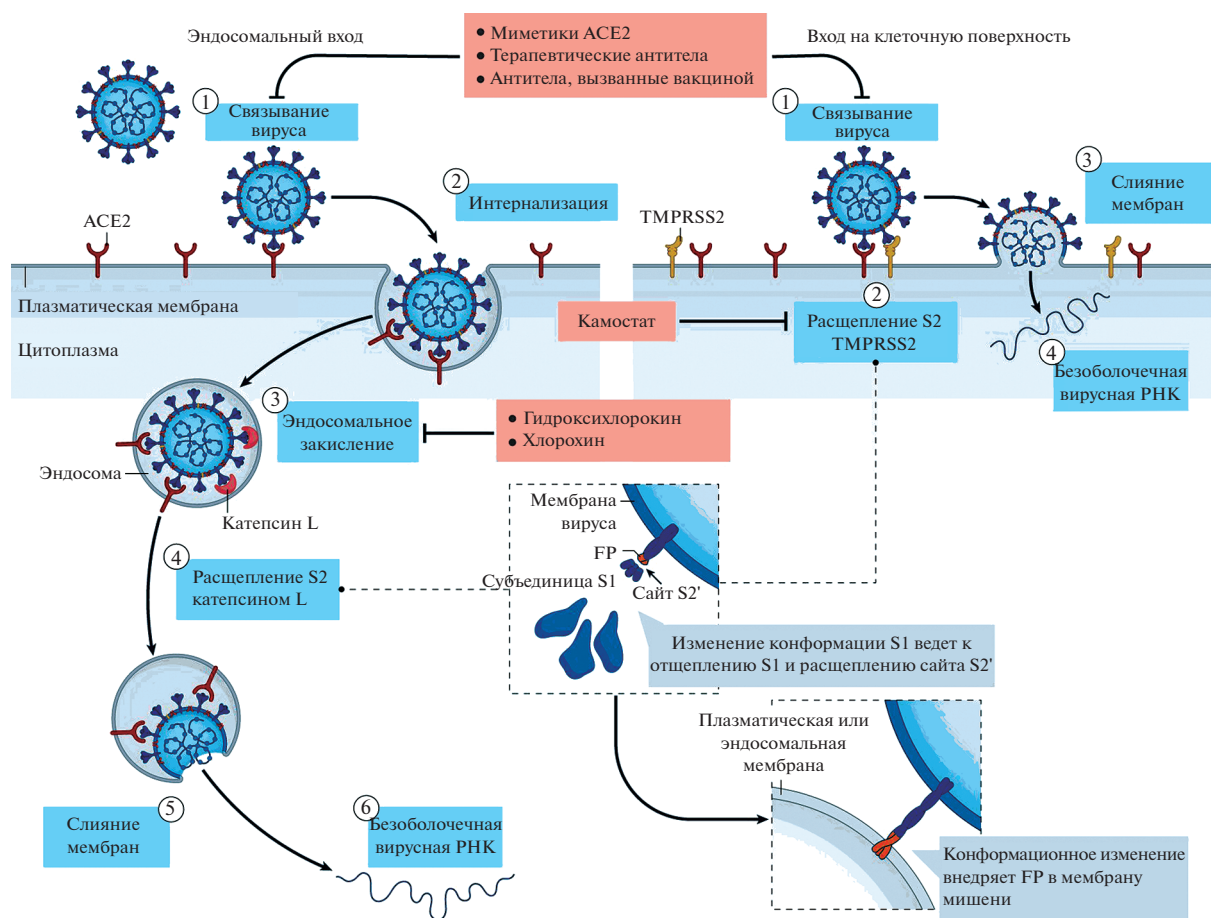


Рис. 1. Два пути проникновения SARS-CoV-2 в клетки (по: Jackson et al., 2022). Для процесса проникновения SARS-CoV-2 необходимы расщепления шиповидного белка S: 1) на стыке субъединиц S1 и S2; 2) на участке S2. Многоосновная последовательность SARS-CoV-2 на границе S1–S2 расщепляется во время созревания вируса в инфицированной клетке, но сайт S2' расщепляется в клетке-мишени после связывания ACE2. Связывание вируса с ACE2 (шаг 1) вызывает конформационные изменения в субъединице S1 и обнажает сайт расщепления S2' в субъединице S2. В зависимости от пути проникновения SARS-CoV-2 сайт S2' расщепляется разными протеазами. Слева: если клетка-мишень недостаточно экспрессирует TMPRSS2 или если комплекс вирус–ACE2 не сталкивается с TMPRSS2, комплекс вирус–ACE2 интернализуется благодаря клатрин-опосредованному эндоцитозу (шаг 2) в эндолизосомы, где расщепление S2' осуществляется катепсинами, которым для своей активности требуется кислая среда (шаги 3 и 4). Справа: в присутствии TMPRSS2 расщепление S2' происходит на поверхности клетки (шаг 2). В обоих путях проникновения расщепление сайта S2' обнажает слитый пептид FP, а отделение S1 от S2 вызывает резкие конформационные изменения в субъединице S2, особенно в гептадном повторе 1, продвигая FP вперед в мембрану-мишень, инициируя слияние мембран (шаг 5 слева и шаг 3 справа). Слияние между вирусной и клеточной мембранами образует пору слияния, через которую вирусная РНК высвобождается в цитоплазму клетки-хозяина для снятия оболочки и репликации (шаг 6 слева и шаг 4 справа).

новый путь, при котором Ang I преобразуется в Ang II, расщепляющий ACE2 до Ang (1–7). При этом снижение экспрессии ACE2 приводит к повышению уровня Ang II, который стимулирует экспрессию PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) в различных клетках, включая клетки гладкой мускулатуры, эндотелиоциты и адипоциты. Повышение уровня PAI-1 приводит к гипофибринолизу. Активация и дисфункция эндотелиальных клеток сопровождается воспалительным процессом, характеризующийся высоким уровнем провоспалительных цитокинов, высвобождением vWF (von Willebrand factor) и повышенной экспрессией молекул

адгезии, в том числе Р-селектина на поверхности эндотелиальных клеток, что способствует образованию тромбов и рекрутированию лейкоцитов. Воспалительные цитокины и специфичные для вируса TLRs индуцируют экспрессию TF в моноцитах, что приводит к активации каскада коагуляции, что приводит к активации каскада коагуляции. Активация тромбоцитов с помощью передачи сигналов TLRs сопровождается повышенной реактивностью и агрегацией тромбоцитов. Стимуляция нейтрофилов приводит к появлению NETs, что ведет к активации коагуляции и обеспечивает основу для адгезии тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов. Параллельно активации свер-

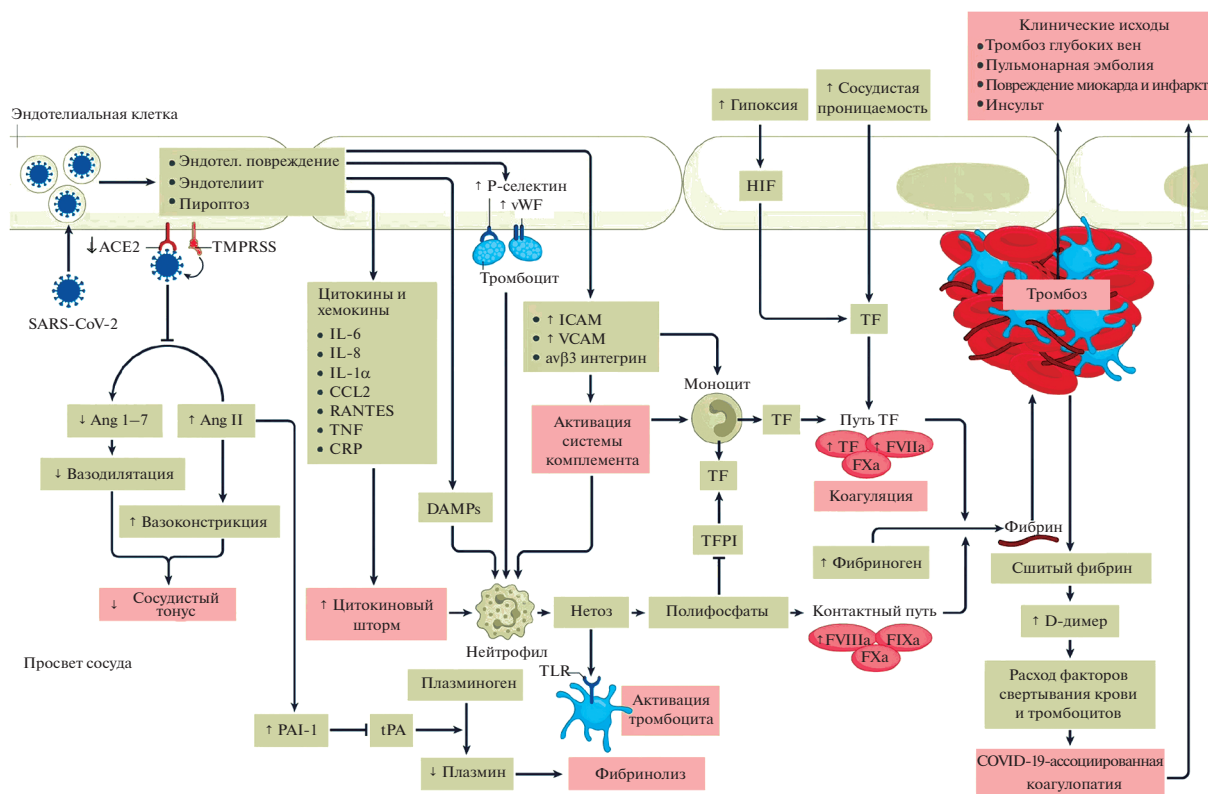


Рис. 2. Механизмы развития гиперкоагуляции и тромбоза при тяжелом течении COVID-19. Объяснение в тексте (по: Gorog et al., 2022).

тывания крови под воздействием TF происходит образование тромбина и фибрина, что позволяет тромбоцитам и другим клеткам крови создавать агрегаты и ведет к возникновению окклюзионного тромба (Gorog et al., 2022).

РОЛЬ ТРОМБОЦИТОВ В РАЗВИТИИ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ ПРИ COVID-19

Как было показано в предыдущем разделе, коагулопатия при COVID-19 связана с выраженной воспалительной реакцией, активацией и повреждением эндотелия (Хавинсон, Кузник, 2020; Ackermann et al., 2020; Connors, Levy, 2020; Tang et al., 2020; Wang, Doran, 2021). У пациентов с пневмонией, вызванной COVID-19, наблюдаются нарушения свертывания крови, чаще всего повышенный уровень фибриногена и D-димера, сочетающийся с легкой тромбоцитопенией (Ackermann et al., 2020; Connors, Levy, 2020; Levi et al., 2020). Повышенный уровень D-димера, как правило, связан с более высоким уровнем смертности. Одновременно у таких больных увеличивается содержание продуктов деградации фибриногена FDP (fibrinogen degradation products), что свидетельствует об интенсивном тромбообразовании. При этом уровень D-димеров и FDP с усилением тяжести

COVID-19 постепенно возрастает, и уровень фибриногена остается повышенным (Han et al., 2020). У части пациентов с COVID-19 выявляются аномально короткие ПВ и АЧТВ, что связано с увеличенным уровнем FVIII (Panigada et al., 2020). У пациентов с более тяжелым поражением может развиться состояние, подобное ДВС-синдрому, с относительно небольшим удлинением ПВ и АЧТВ, при этом уровень фибриногена может оставаться в норме или быть повышенным (Connors, Levy, 2020).

Следует отметить, что увеличение в крови концентрации D-димера >2.5 мкг/мл при первоначальном обращении является прогностическим признаком тромбоза, критического состояния и смерти. Дополнительный маркер, позволяющий прогнозировать тромбоз во время госпитализации, при первичном обращении — количество тромбоцитов $>450 \times 10^9/\text{л}$ или $<100 \times 10^9/\text{л}$. У пациентов с более выраженной тромбоцитопенией ($<50 \times 10^9/\text{л}$) отмечаются повышенные геморрагические проявления (Al-Samkari et al., 2020).

Согласно данным (Escher et al., 2020), у госпитализированных пациентов с COVID-19 повышены циркулирующие маркеры активации эндотелиальных клеток, включая vWF, PAI-1, молекулы межклеточной адгезии 1 ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), молекулы адгезии сосудистых

клеток 1 VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) и Р-селектин. Кроме того, у таких больных значительно повышено содержание фибриногена, tPA и его ингибитора PAI-1, а также ST2 — рецептор IL-33. Более высокий уровень tPA, ST2 и vWF во время госпитализации связан с более низкими показателями выживаемости, а тромботические события более часты у пациентов с исходно более высокой концентрацией vWF (Escher et al., 2020).

Повреждение эндотелия, опосредованное SARS-CoV-2, способствует активации тромбоцитов, повышению уровня CD40L и Р-селектина в плазме, обеспечивая таким образом положительную обратную связь для образования тромботической пробки и опосредованного образования тромбина. В умеренной стадии заболевания наблюдается активация тромбоцитов, увеличение уровня фибриногена и PAI-1, развитие гиперкоагуляции. Уровень tPA не изменяется у пациентов со средней тяжестью, но значительно повышается в тяжелых случаях COVID-19 (Al-Tamimi et al., 2022).

Важный этап активации тромбоцитов — потеря асимметрии липидов, способствующая переходу анионных липидов, в частности фосфатидилсерина, на внешнюю мембрану. Эта перегруппировка мембранных фосфолипидов создает прокоагулянтную поверхность на тромбоцитах, где факторы свертывания крови могут закрепляться и активироваться. В то же время появившийся тромбин переводит фибриноген в фибрин, который взаимодействует с активированными тромбоцитами, что приводит к стабилизации агрегатов. Примечательно, что в тромбоцитах пациентов с COVID-19 обнаружена повышенная активность FXII, которая сопровождается укорочением АЧТВ, измеренного в богатой тромбоцитами плазме. Другими словами, тромбоциты пациентов с COVID-19 демонстрируют прокоагулянтный фенотип (Taus et al., 2020).

Известно, что увеличение фосфорилирования cPLA20 (cytosolic phospholipase A20) способствует повышению ее активности, что усиливает продукцию тромбоксанов. Оказалось, что содержание в плазме тромбоксанов TxA_2 и TxB_2 выше у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (Hottz et al., 2020).

Тромбоцитопения у больных COVID-19 выявляется в 5–41.7% случаев, варьируя в зависимости от тяжести заболевания, и обычно имеет легкую форму (как правило, $100\text{--}150 \times 10^9/\text{л}$). Уменьшение числа тромбоцитов чаще встречается среди пациентов пожилого возраста. Одновременно у таких больных выявлены более низкое абсолютное число нейтрофилов и лимфоцитов, более высокий уровень С-реактивного белка и более выраженное снижение соотношения $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, чем у пациентов без тромбоцитопении (Guan et al., 2020; Zhang Y. et al., 2020; Wool, Miller, 2021).

При метаанализе (Jiang et al., 2020) исследований 7613 пациентов установлено, что у тяжелобольных число тромбоцитов меньше, чем у пациентов с нетяжелым течением заболевания. Более того, чем ниже число тромбоцитов, тем тяжелее протекает заболевание и тем выше риск летального исхода (Liu et al., 2020; Allaoui et al., 2021).

Следует отметить, что временная тенденция к снижению количества тромбоцитов клинически свидетельствует об усугублении тромботического состояния во время госпитализации — тромбоцитопения, наряду с гиперактивацией тромбоцитов (тромбоцитопатия), способствует чрезмерному тромбообразованию и нарушению регуляции иммунного ответа (Thachil et al., 2020).

Следует учесть, что тромбоциты на разных фазах течения COVID-19 участвуют в нарушении легочной микроциркуляции и дыхательной функции легких. Активированные тромбоциты теряют способность защищать целостность стенок кровеносных сосудов, повышая проницаемость микроциркуляторного русла легких. Высокий уровень маркеров активации тромбоцитов наблюдается и в тяжелых, и в легких случаях течения COVID-19, а также в краткосрочной и долгосрочной перспективе. У пациентов с COVID-19 можно обнаружить высвобождение различных микровезикул клеточного происхождения. В дополнение к обеспечению фосфолипидной поверхности для синтеза комплекса внутренней теназы и протромбиназы, экспонированный фосфатидилсерин тромбоцитов также способствует пробуждению TF, который затем способствует коагулянтной активности за счет образования комплекса с FVIIa для активации FX (Xiang et al., 2022).

Между тем, число тромбоцитов у пациентов с COVID-19 может быть повышено, что следует объяснить тремя возможными механизмами. Первый заключается в том, что инфекция индуцирует цитокиновый шторм, включая тромбопоэтин, IL-3, IL-6, IL-9 и IL-11, стимулирующие мегакариопоэз. При втором — повреждение эндотелия приводит к высвобождению vWF. Третий — сопровождается высвобождением тромбопоэтина, стимулирующего активность мегакариоцитов (Yang et al., 2020; Ulanowska, Olas, 2021). Особо следует отметить, что мегакариоциты производят тромбоциты в альвеолярных капиллярах пациентов с COVID-19 (Fox et al., 2020).

Согласно данным (Morris et al., 2020), активированные эндотелиальные клетки способствуют развитию коагулопатии посредством нескольких механизмов, включая рекрутирование тромбоцитов, независимо секретирующих TF и vWF, снижение активности тромбомодулина и протеина С при одновременной стимуляции PAR-1 (protease-activated receptor 1). При этом активированные в легких тромбоциты, являясь важным источником

провоспалительных цитокинов и АФК, способны усугублять воспалительные реакции, опосредованные нейтрофилами.

Помимо заболеваний легких, клинические осложнения COVID-19 включают повреждение миокарда и сосудистые заболевания, связанные с ишемией. Тяжелые проявления и неблагоприятный прогноз у этих больных связаны с гиперкоагуляционным состоянием, предрасполагающим к тромботическим осложнениям и, в конечном итоге, к летальному исходу. В этих ситуациях тромбоциты играют ключевую роль, поскольку вирусы могут индуцировать их активацию через TLRs и ось ACE2–Ang II (Violi et al., 2021).

Тромбоциты в легочных сосудах также являются мишенями для активации оксидативного стресса высоким уровнем провоспалительных цитокинов и реактантов, секретируемых альвеолярными макрофагами и стимулированными эпителиальными клетками 2-го типа. Активированные тромбоциты также становятся важным источником провоспалительных цитокинов и АФК (Sonmez, Sonmez, 2017). Необходимо отметить, что активированные тромбоциты секретируют несколько хемокинов, в первую очередь RANTES (regulated upon activation, normal t-cell expressed and secreted), CCL4 и PF4 (platelet factor 4), усиливающих активацию нейтрофилов, их выживаемость, рекрутирование в эндотелии и последующее прикрепление к эндотелиальным клеткам. Наконец, активированные тромбоциты также играют решающую роль в опосредовании и обострении воспалительных реакций при остром повреждении легких путем прямого связывания с нейтрофилами, что приводит к образованию тромбоцитарно-нейтрофильных комплексов (Stark, 2019).

Образуя комплексы с нейтрофилами, тромбоциты увеличивают их рекрутирование, активацию и экстраверсию в воспаленную легочную ткань, тем самым способствуя развитию ОРДС. Более того, секвестрированные тромбоцитарно-нейтрофильные комплексы вызывают развитие прокоагулянтной и провоспалительной среды, что приводит к возникновению имунотромбоза (Morris et al., 2020).

Тромбоциты могут взаимодействовать с циркулирующими моноцитами. У пациентов с тяжелой пневмонией, вызванной COVID-19, в жидкости бронхоальвеолярного лаважа обнаружено большее число воспалительных моноцитов — основных источников провоспалительных цитокинов, приводящих к развитию цитокинового шторма (Liao et al., 2020; Merad, Martin, 2020).

У тяжелобольных COVID-19 выявлена усиленная продукция крупных незрелых тромбоцитов, обладающих повышенной активностью. Кроме того, тромбоциты больных COVID-19 несут на своей мембране повышенное содержание vWF и P-селектина, что может быть еще одним механиз-

мом усиленного свертывания крови (Wool, Miller, 2021). При этом более крупные тромбоциты содержат большее количество плотных гранул и продуцируют больше активных соединений, включая TxA_2 , и, как полагают, обладают большей протромботической активностью (Ulanowska, Olas, 2021). К сказанному следует добавить, что для пациентов с тяжелой формой инфекции SARS-CoV-2 характерна не только гиперреактивность тромбоцитов, но и дефицит ADAMTS13, способного разбивать агрегаты, что усиливает процесс тромбообразования в мелких сосудах и гипоксию (D'Ardes et al., 2022).

Таким образом, можно считать, что коагулопатия COVID-19 представляет собой комбинацию локализованного потребления тромбоцитов в легких, ДВС-синдрома с развитием микроангиопатии. Повышенные уровни vWF и растворимого тромбомодулина указывают не только на активированный поврежденный эндотелий, но и на наличие стимулированных тромбоцитов. Отметим, что прогрессирующее увеличение vWF, истощение фибриногена с высокими уровнями D-димера и даже более высокая концентрация P-селектина с последующим цитокиновым штормом всегда свидетельствует о плохом прогнозе (Perico et al., 2022).

Обнаружена (Barrett et al., 2021) прямая связь между молекулой MRP8/14 (myeloid related protein 8/14), высвобождаемой тромбоцитами, и активацией эндотелиальных клеток. Увеличение числа эндотелиальных клеток в участках плотных межклеточных контактов, усиление коагуляции и провоспалительных процессов коррелирует с нарушением регуляции транскриптома тромбоцитов у больных COVID-19, экспрессией РНК и белкового продукта S100A8/A9. Эти транскриптомные изменения приводят к повышенной продукции IL-6 и IL-8 и корреляции тромбоцитарного и эндотелиального транскриптома с активацией тромбоцитов. Кроме того, у тяжелобольных COVID-19 циркулирующий уровень MRP8/14 связан с последующим тромбозом и смертью. Терапевтическое воздействие на P2Y12 тромбоцитов снижает мРНК тромбоцитов S100A8/A9 и провоспалительные взаимодействия тромбоцитов с эндотелием. Следовательно, тромбоциты усиливают дисфункцию эндотелиальных клеток и опосредуют тромбовоспаление. Также у пациентов с тяжелой формой COVID-19 более высокое содержание IL-6 и TNF- α в плазме может запускать активацию и коагуляционную активность тромбоцитов и в свою очередь усугублять тромбоз и гиперкоагуляцию (Kaur et al., 2022).

Важную роль в развитии гиперкоагуляции и тромбоза при COVID-19 играет нарушение гемодинамики. Повреждение эндотелия приводит к образованию зон рециркуляции/застоя, которые изменяют нормальную гемодинамику и связаны с

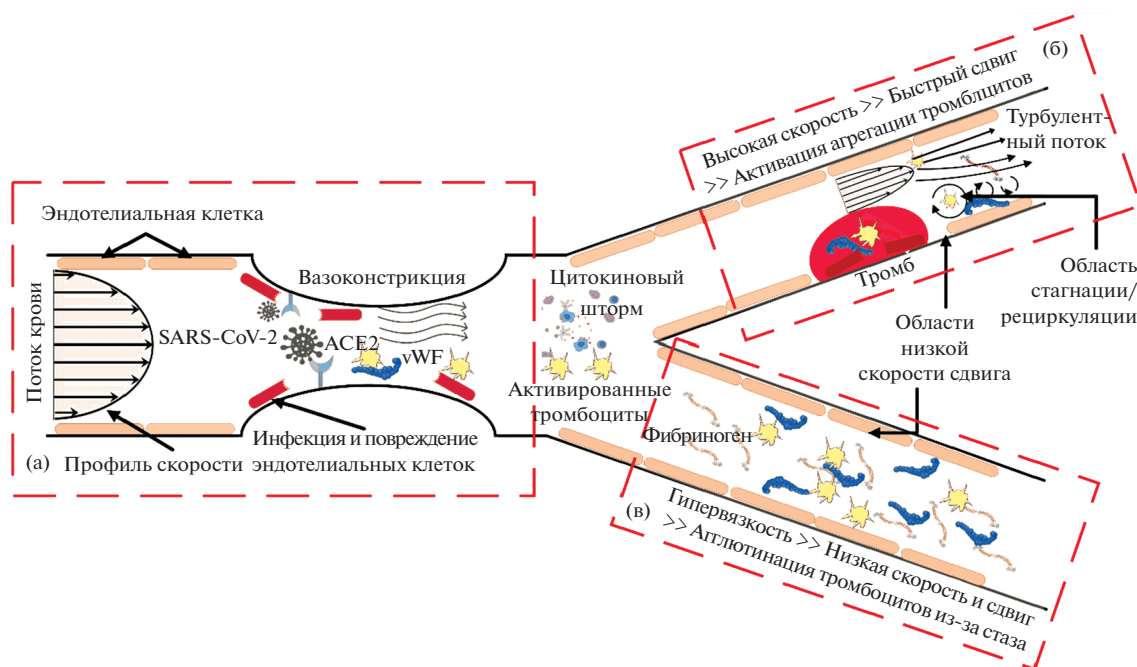


Рис. 3. Схема параметров гемодинамики в тромбированном кровеносном сосуде у пациентов с COVID-19 (по: Sastry et al., 2022). (а) SARS-CoV-2 связывается с рецепторами ACE2, вызывая повреждение эндотелиальных клеток, которое инициирует тромботические пути для образования тромба в различных условиях. Повреждение эндотелиальных клеток приводит к попаданию в кровоток TF, vWF, коллагена и других тромботических факторов, которые инициируют как внутренний, так и внешний пути коагуляционного каскада. Кроме того, просвет сосуда уменьшается из-за вызванной травмой вазоконстрикции. В мелких сосудах и капиллярах, в частности альвеолярных, вазоконстрикция должна оказывать значительное влияние, приводя к массивному капиллярному застою, диффузным микротромбам и повреждению органов. (б) В более мелких артериях происходит уменьшение просвета сосуда из-за образования тромба и сужения сосудов, что приводит к высоким линейным скоростям и быстрым сдвигам. Увеличение скорости сдвига вызывает морфологические изменения vWF, активируя тромбоциты и увеличивая образование тромбов. Позади тромба, вероятно, появляются зоны рециркуляции/застоя, и эти области связаны с массовым образованием агрегатов тромбоцитов. (в) У пациентов с COVID-19 наблюдается увеличение вязкости плазмы, что в более мелких венах и капиллярах приводит к низким линейным скоростям и медленным сдвигам. Нефизиологически низкие значения сдвига влияют на агрегацию тромбоцитов.

отложением тромбоцитов. При этом отмечают значительные нарушения газообмена в легких. Это явление связано с перераспределением крови от мелких легочных сосудов либо из-за повышенного сосудистого сопротивления, либо из-за вазоконстрикции дистальных легочных артерий, либо из-за наличия микротромбов, адгезированных и агрегированных тромбоцитов, а, скорее всего, из-за комплекса перечисленных факторов (Thil-lai et al., 2021; Poor, 2021; Sastry et al., 2022) (рис. 3).

РОЛЬ ТРОМБОЦИТОВ В ОСУЩЕСТВЛЕНИИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФОРМИРОВАНИЯ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Ранее мы указывали, что у тяжелобольных COVID-19 могут проявляться альтернативные пути образования (минуя тромбин) и растворения (минуя плазмин) фибринового сгустка и возникновения тромбоэмболических осложнений.

Эти реакции многообразны и обусловлены особенностями строения SARS-CoV-2, состоянием врожденного и адаптивного иммунитета, активацией гуморальных защитных систем организма, выделением многочисленных триптаз в кровь, в том числе увеличением трипсина в биологических жидкостях (Magro et al., 2020; Bumiller-Bini et al., 2021; Conway, Prydzial, 2022). В этом разделе мы обобщаем имеющуюся литературу о роли тромбоцитов в осуществлении альтернативных механизмов системы гемостаза.

Тромбоциты и шиповидный белок S SARS-CoV-2

В настоящее время известно, что альтернативные пути развития и регуляции системы гемостаза и тромбообразования связаны с влиянием шиповидного белка S и папаиноподобной протеазы SARS-CoV-2. Шиповидный белок S непосредственно влияет на развитие гиперкоагуляции, наблюдаемой у пациентов с COVID-19. Он вызыва-

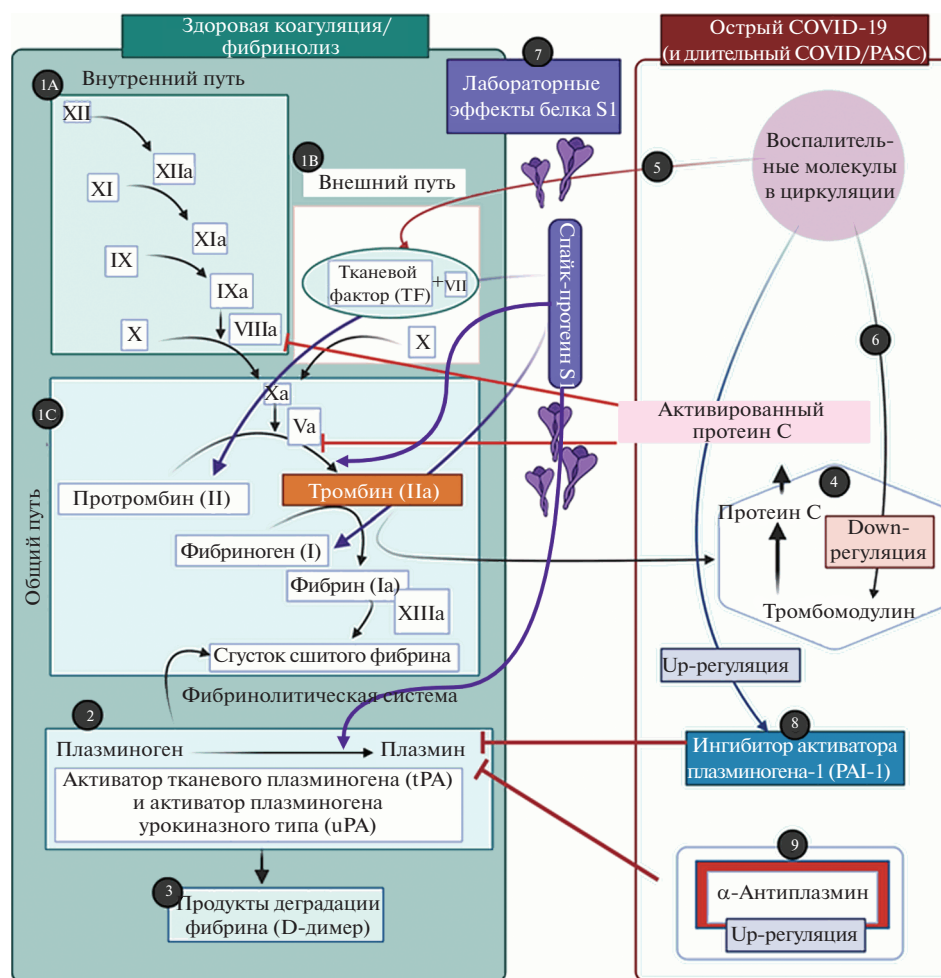


Рис. 4. Упрощенная диаграмма коагуляции в норме и точки приложения шиповидного белка S (по: Grobbelaar et al., 2021, с изменениями). Внутренний (1A) и внешний (1B) пути сходятся в общий путь (1C). Эти пути приводят к превращению растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин, катализируемый тромбином. (2) Активатор тканевого плазминогена (tPA) или активатор плазминогена урокиназного типа (uPA) превращают плазминоген в плазмин. Фибринолитическая система в норме регулирует путь коагуляции и способствует успешному лизису нерастворимого фибринового сгустка. (3) Плазмин расщепляет фибрин на продукты деградации фибрина, включая D-димер. (4) Протеин С и тромбомодулин регулируют коагуляцию: тромбин связывается со своим рецептором тромбомодулином, что приводит к появлению активированного протеина С (APC). Затем APC ингибирует как Va, так и VIIIa. (5) Нерегулируемые воспалительные молекулы могут мешать экспрессии тканевого фактора TF. (6) Дисрегуляция воспалительных молекул может также подавлять тромбомодулин, что приводит к гиперкоагуляции, поскольку активность Va и VIIIa в этом случае недостаточно модулируется. (7) При добавлении шиповидного белка S1 в плазму здоровых людей эти процессы нарушаются. (8) При этом белок S1 переводит фибриноген в фибрин, минуя тромбин, протромбин в тромбин, и плазминоген — в плазмин через активацию uPA. Одновременно дисрегуляция воспалительных молекул в кровообращении может ингибировать фибринолиз за счет повышения концентрации ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1). Повышенная концентрация PAI-1 блокирует действие tPA и в конечном итоге приводит к нарушению регуляции системы свертывания крови. (9) В то же время α -антиплазмин ингибирует плазмин и тормозит фибринолиз, резко усиливая процессы тромбообразования.

ет аномальное свертывание как в очищенном флуоресцентном фибриногене, так и в плазме здоровых людей, бедной тромбоцитами. Эти плотные отложения обнаружены в мазках, обработанных спайковым белком, и при добавлении тромбина. С помощью масс-спектрометрического анализа удалось показать, что внесение шиповидного белка S в здоровую бедную тромбоцитами плазму приводит к структурным изменениям β - и γ -фибрина/фиб-

риногена, C3-компонента комплемента и протромбина (Grobbelaar et al., 2021) (рис. 4).

Между тромбоцитами и шиповидным белком S SARS-CoV-2 существуют определенные взаимосвязи. Так, установлено (Li et al., 2022), что SARS-CoV-2 взаимодействует с тромбоцитами через уникальный рецептор CD42b. При этом у больных с тяжелым течением COVID-19 тромбоциты под влиянием SARS-CoV-2 через молекулы

CD40L, вступающие во взаимодействие с CD40, активируют моноциты, а также связывание Р-селектина с гликопротеиновым лигандом PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand 1). Этот механизм зависит от спайкового белка SARS-CoV-2, но не связан с путем заражения ACE2. Описанные процессы осуществляются независимо от того, существует ли спайк в виде растворимого белка или в составе оболочки вируса. Более того, тромбоциты, активированные SARS-CoV-2, индуцируют дифференцировку моноцитов в направлении провоспалительного фенотипа, который характеризуется более высокой экспрессией CD86, HLA-DR и IL-1 β . Следовательно, SARS-CoV-2 может напрямую активировать тромбоциты, а связывание шиповидного белка с CD42b должно способствовать усилению протромботических влияний.

Тромбоциты могут напрямую взаимодействовать с SARS-CoV-2, перенося вирус. Но также тромбоциты способствуют поглощению вируса за счет секреции субтилизиноподобной пропротеинконвертазы фурина. Расщепление шиповидного белка SARS-CoV-2 фурином усиливает способность связывания и проникновения вируса в различные типы клеток (Rohlfing et al., 2021).

В кровотоке больных COVID-19, находящихся в критическом состоянии, обнаружена РНК SARS-CoV-2, что связано с гиперактивностью тромбоцитов. Тромбоциты экспрессируют ACE2-рецептор клетки-хозяина для SARS-CoV-2 и TMPRSS2 — сериновую протеазу, праймирующую белок S. SARS-CoV-2 и его спайк-белок непосредственно повышают активацию тромбоцитов, сопровождаемую усилением агрегации тромбоцитов, связыванием PAC-1, экспрессией CD62P, секрецией и высвобождением α - и плотных гранул, а также ретракцией сгустка. Спайк-белок усиливает образование тромбов у мышей дикого типа при переливании трансгенных тромбоцитов hACE2. Кроме того, SARS-CoV-2 и его шиповидный белок напрямую стимулируют тромбоциты, способствуя высвобождению тромбоцитарных факторов, секреции воспалительных агентов и образованию лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов. Рекомбинантный человеческий белок ACE2 и моноклональное антитело против спайк-белка могут ингибировать активацию тромбоцитов, вызванную спайковым белком S (Zhang Y. et al., 2020).

Необходимо отметить, что SARS-CoV-2 и его шиповидный белок напрямую стимулируют активацию FV и FXIII, а также образование лизофосфатидиловой кислоты LPA, что способствует тромбообразованию (Zhang Y. et al., 2020). Из представленных данных невольно напрашивается вывод, что шиповидный белок S способен в обход тромбина не только воздействовать на фибриноген (Grobbelaar et al., 2021), но и активиро-

вать плазменные факторы свертывания крови (Zhang Y. et al., 2020).

SARS-CoV-2 из альвеол связывает и активирует тромбоциты, что усиливает тромбообразование и воспалительную реакцию в капиллярах, а впоследствии способствует развитию ДВС и ОРДС. Спайковый белок SARS-CoV-2 связывается с ACE2 и фосфорилирует ACE2, что приводит к усилению передачи сигналов MAPK (фосфорилирование Erk, p38 и JNK) и последующей активации тромбоцитов, высвобождению из них факторов свертывания крови и секреции воспалительных цитокинов (рис. 5). Эти реакции подавляются рекомбинантным человеческим белком ACE2 и моноклональным антителом против шиповидного антитела (центральная иллюстрация).

У 30.4% пациентов с тяжелым течением COVID-19 обнаружен высокий уровень шиповидного белка. *In vitro* активация эндотелиальных клеток белком S1 через ACE2 нарушает передачу сигналов аденозин-монофосфат активируемой протеинкиназы AMPK, что из-за повышенной экспрессии адгезивных молекул приводит к усиленному рекрутированию лейкоцитов и дефициту антикоагулянта тромбомодулина. S1-индуцированный провоспалительный фенотип, наряду с образованием C3a и C5a, приводит на эндотелиальных клетках к обильному отложению C3 и C5b-9, что еще больше усиливает S1-индуцированную активацию комплемента. Функциональная блокада ACE2 или ингибирование комплемента останавливают образование S1-индуцированных агрегатов из тромбоцитов, ограничивая на эндотелиальных клетках экзцитоз и экспрессию vWF и Р-селектина. Следовательно, S1, полученный из SARS-CoV-2, сам по себе достаточен для распространения воспалительных и тромбогенных процессов в микроциркуляторном русле, усиленных системой комплемента, и дополнительно усугубляет тромбоэмболические осложнения COVID-19 (Perico et al., 2022). К приведенным фактам следует добавить, что активация системы комплемента и образование фрагментов C3a и C5a напрямую способны переводить фибриноген в фибрин, минуя тромбин (Magro et al., 2020).

Существует тесная связь между шиповидным белком S, системой комплемента и тромбоцитами. Спайковый белок SARS-CoV-2 (субъединицы S1 и S2) напрямую активирует альтернативный путь комплемента. Фрагменты C3 и C5b-9 откладываются на клетках-мишенях TF1PIGAnull, а фактор комплемента Bb увеличивается в супернатанте клеток, обработанных шиповидным белком S. Ингибирование C5 предотвращает накопление C5b-9 на клетках, а связывание фактора D предотвращает накопление и C3c, и C5b-9. Добавление фактора H смягчает атаку комплемента на вирус. Кроме того, шиповидный белок SARS-CoV-2 преобра-

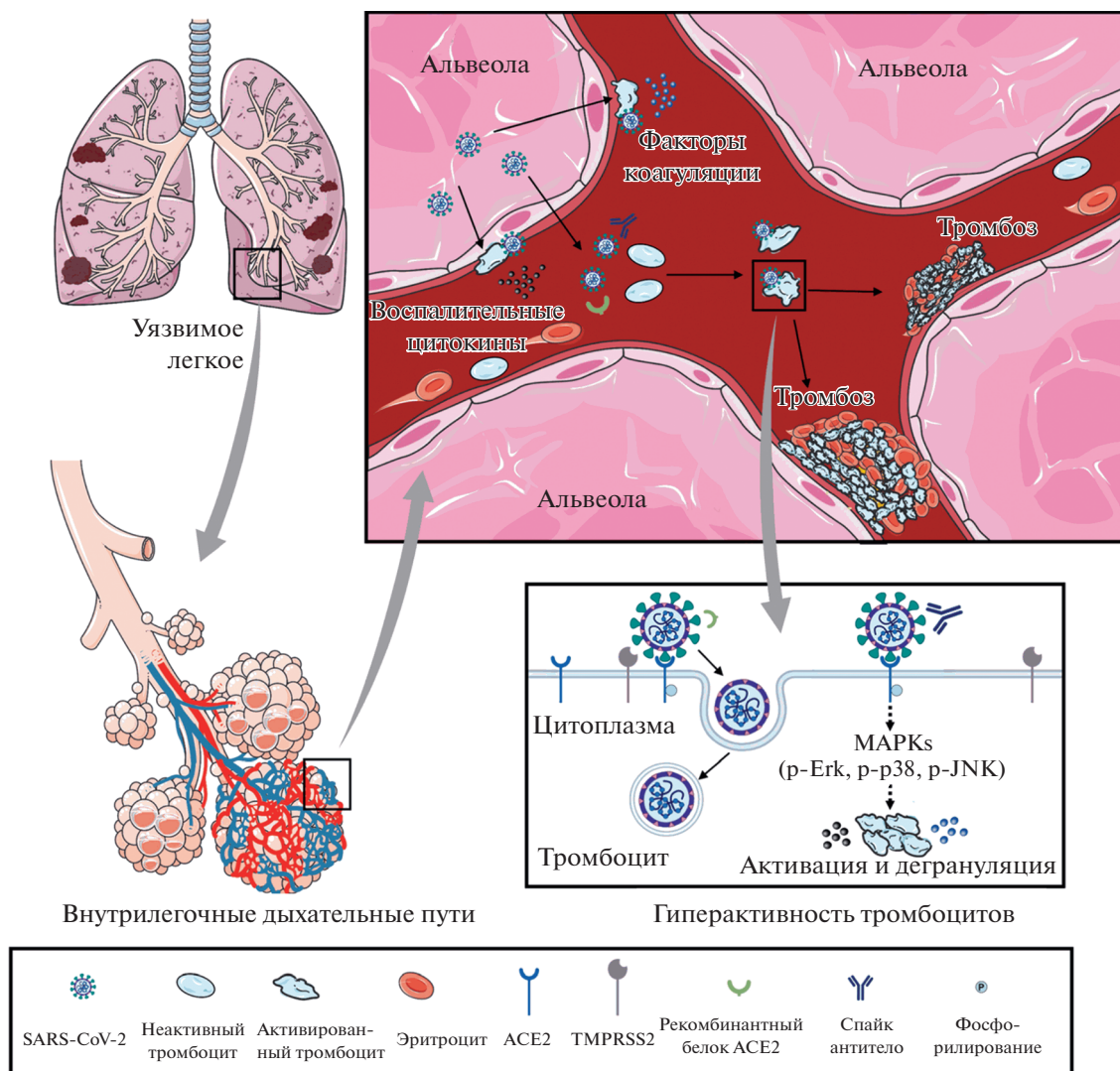


Рис. 5. Сводные схемы, иллюстрирующие активацию тромбоцитов SARS-CoV-2 и усиление тромбоза при COVID-19 (по: Zhang Y. et al., 2020, адаптировано).

зует неактивирующие поверхности в активирующие, предотвращая инактивацию конвертазы APC (activated protein C) клеточной поверхностью. Активация протеина C может объяснить многие клинические проявления (микроангиопатия, тромбоцитопения, повреждение почек, тромбозы и тромбофилия) COVID-19. При этом не блокируется восходящая активация комплемента в ответ на шиповидные белки SARS-CoV-2 (Yu et al., 2020).

Доказано, что белок S вызывает динамическую деформацию тромбоцитов, что может приводить к их необратимой активации. С помощью клеточной криоэлектронной томографии на поверхности тромбоцитов выявлен хорошо визуализируемый S-белок, приводящий к образованию филоподий. Оказалось, что белок S распознает интегрин $\alpha v \beta 3$. Более того, стохастическая активация тромбоцитов обусловлена слабым взаи-

модействием S-белка с интегрином $\alpha v \beta 3$, что должно быть связано с патогенезом COVID-19 и возникновением тяжелых коагулопатий (Kuhn et al., 2022).

Как показывают исследования (Bye et al., 2021), иммунные комплексы, содержащие рекомбинантный спайковый белок SARS-CoV-2 и IgG против спайка, усиливают опосредованный тромбоцитами тромбоз и активацию vWF, но только тогда, когда состояние гликозилирования домена Fc изменено так, чтобы соответствовать aberrантному гликозилированию, выявляемому у пациентов с тяжелым течением COVID-19. Оказалось, что обнаруженная активация зависит от Fc γ RIIA.

Доказано, что антигепариновый тромбоцитарный фактор PF4 и домен-связывающий рецептор spike-RBD могут вступать во взаимодействие друг с другом. Эта взаимосвязь двух белков способствует генерации анти-PF4-антител, а их связывание с

spike-RBD из-за их высокой экспрессии ACE2 — усилению агрегации тромбоцитов. Безусловно, подобные взаимосвязи должны усилить процесс тромбообразования (Passariello et al., 2021).

Представленные в этом разделе данные указывают на то, что тромбоциты опосредовано — через шиповидный белок S SARS-CoV-2 — могут принимать участие в альтернативном пути перехода фибриногена в фибрин, минуя образование тромбина, а также активируя плазменные факторы свертывания крови.

Тромбоциты и система комплемента

Согласно данным исследований *in silico* и *in vitro* (Tiwari et al., 2020), спайк-белок S SARS-CoV-2 способен взаимодействовать с C3 и активирует его протеолитический процессинг. При этом C3 гидролизуется в C3a и C3b, расщепляющий C5 на C5a и C5b. В дальнейшем C3a и C5a индуцируют продукцию воспалительных цитокинов. Кроме того, C3a, C5a, а также МАК (мембрано-атакующий комплекс) активируют внешний и внутренний пути свертывания крови. C5a также активирует продукцию IL-6 и TNF- α , что усиливает оба пути коагуляции. Наконец МАК (C5b-9), воздействуя на тромбоциты, способствует высвобождению запятого TF, что усиливает процессы тромбообразования.

Установлено, что активация системы комплемента по лектиновому пути, значительно усиленному у тяжелобольных COVID-19, приводит не только к интенсификации процесса коагуляции по классическому варианту, но и посредством действия протеаз MASP-1 и MASP-2 форсирует образование тромбина и фибрина (Jenny et al., 2015, 2019; Bumiller-Bini et al., 2021). В частности, MASP-2 способна стимулировать расход фибриногена за счет расщепления протромбина с образованием тромбина. В эксперименте при использовании активной MASP-2 в комплексе с маннозсвязывающим лектином MBL (mannose-binding lectin) образующийся тромбин может расщеплять как FXIII, так и фибриноген, а также активировать TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor) (Krarup et al., 2007; Frithiof et al., 2021). В то же время MASP-1 активирует протромбин двумя путями, расщепляя R271 или R393. Оба пути приводят к образованию нескольких активных альтернативных форм тромбина. При этом развивающееся тромбовоспаление является результатом активации каскадных систем крови (комплемента, коагуляционной и фибринолитической), которые, действуя совместно, приводят к стимуляции клеток крови (полиморфноядерные лейкоциты, моноциты, тромбоциты) и эндотелиальных клеток. Особо следует отметить, что MASP-1 и MASP-2 не только оказывают влияние на активацию тромбоцитов и расщепление фибрина, но и

активированные тромбоциты и фибрин как *in vitro*, так и *in vivo* стимулируют MASP-1 и MASP-2 (Jenny et al., 2019; Frithiof et al., 2021).

Образуемый фибрин и генерируемый под воздействием плазмينا D-димер не только связывают, но и активируют MASP-1 и MASP-2. При этом во время свертывания крови без вмешательства гепарина наступает инактивация антитромбина. Кроме того, MASP-1 и MASP-2 инактивируются C1-INH и связывают этот ингибитор классического пути системы комплемента и тромбина. В присутствии низкомолекулярного гепарина антитромбин и C1-INH являются эффективными ингибиторами MASP-1. Так осуществляется взаимосвязь между системой комплемента, свертыванием крови, действием антикоагулянтов и фибринолизом (Kozarcanin et al., 2016).

Доказано, что у пациентов с COVID-19 во многих органах имеются отложения фрагментов комплемента. Так, повреждение капилляров в легких у умерших от дыхательной недостаточности сопровождается в микроциркуляторном русле обширными отложениями C5b-9, C4d и MASP-2. Аналогичная картина обнаружена на коже пациентов с сетчатыми и пурпурными поражениями. Более того, C4d и C5b-9 совместно локализируются с S-белком SARS-CoV-2 в сосудистой сети легких и кожи (Magro et al., 2020). При вскрытии трупов больных продемонстрировано сильное окрашивание C5b-9 на апикальной щеточной каемке эпителиальных клеток канальцев почек с минимальным отложением на клубочках и капиллярах (Diao et al., 2020).

На эндотелиальных клетках и тромбоцитах обнаружены (Lee et al., 2022) агрегаты IgG и IgM, локализованные совместно с фрагментами C1q, C4d и C5b-9, что свидетельствует об активации классического пути системы комплемента. Кроме того, выявлены отложения C1q и C3 в макрофагах и эндотелиальных клетках, которые индуцируются спайковым белком SARS-CoV-2.

Установлено (Cugno et al., 2021; Ma et al., 2021; Iba et al., 2023), что при COVID-19 преобладают альтернативные пути активации системы комплемента. У пациентов с COVID-19 обнаружено более высокое содержание компонентов C3, C4 и C5a. У больных с COVID-19 уровень антигена vWF значительно выше, чем у здоровых людей. При этом наблюдается значительная положительная корреляция между анафилотоксинами C3a, C5a и антигеном vWF (Gauchel et al., 2022). При тяжелом течении COVID-19 в крови возрастает содержание серотонина, что свидетельствует о повышенной активации тромбоцитов и их значительной роли в развитии многих разрушительных легочных и внелегочных осложнений, в том числе и тромбоза (Santos et al., 2022).

Тромбоциты могут интернализировать попавший в кровоток SARS-CoV-2, а вирусная одноцепочечная РНК способна активировать TLR7. В свою очередь TLR7 приводит к высвобождению компонента С3 системы комплемента из α -гранул тромбоцитов. Одновременно С3 стимулирует нетоз, а высвобождаемая нейтрофильная ДНК захватывает вирус, который мог быть пропущен тромбоцитами. Тромбоциты также могут контролировать степень нетоза, высвобождая в результате сигнала, исходящего от нейтрофилов, GM-CSF. Повреждение инфекцией ткани провоцирует высвобождение TF, ведя к образованию тромбина и к переходу фибриногена в фибрин, а также к агрегации тромбоцитов и к активации С3. При этом воспалительные цитокины IL-1b или IL-6 могут дополнительно способствовать агрегации тромбоцитов, что усиливает формирование тромба (Koupenova, 2020).

ADAMTS13 – металлопротеиназа, специфически расщепляющая необычно большие мультимеры vWF (UL-vWF), вновь высвобождаемые из эндотелиальных клеток сосудов. Отношение активности ADAMTS13 к антигену vWF (ADAMTS13/vWF) и показатели альтернативного пути активации системы комплемента (С3а и sC5b-9) связаны с тяжестью течения COVID-19. Соотношение ADAMTS13/vWF у пациентов с тяжелой формой COVID-19 обычно умеренно снижено. При цитокиновом шторме IL-8 и TNF- α стимулируют высвобождение vWF из эндотелиальных клеток сосудов; IL-6 ингибирует и продукцию ADAMTS13, и его взаимодействие с vWF, что приводит к локализованному тяжелому дефициту активности ADAMTS13. Тромбоспондин-1 и PF4, высвобождаемые при активации тромбоцитов, связываются с доменом A2 vWF, усиливая таким образом блокаду ADAMTS13. При этом высвобожденные UL-vWF остаются связанными с поверхностью эндотелиальных клеток посредством закрепления с синдеканом-1 в гликокаликсе. Развертывание домена A2 vWF, имеющего высокую гомологию последовательности с фактором комплемента В, позволяет домену связываться с активированным компонентом С3b, обеспечивая платформу для активации комплемента по альтернативному пути. Образующиеся С3а и С5а генерируют NETs, богатые TF и вызывающие смешанный иммунотромбоз (сгустки фибрина и агрегаты тромбоцитов), обычно наблюдаемый у пациентов с тяжелой формой COVID-19 (Fujimura, Holland, 2022).

Согласно данным (Moraes et al., 2022), при COVID-19 из активированных тромбоцитов образуется значительное число циркулирующих микровезикул, а их прокоагулянтная активность влияет на воспалительный процесс. Микровезикулы стимулируют высвобождение провоспалительных цитокинов, вызывая повреждение эндотелия. Образующиеся эндотелиальные везикулы

увеличивают адгезию тромбоцитов к коллагеновым матрицам с последующей активацией моноцитов и значительной продукцией TF, что в конечном итоге ведет к появлению тромбина и тромбообразованию. Одновременно у таких больных наблюдается активация системы комплемента, о чем свидетельствует повышение С4b и последующее его потребление.

Ось С5а/С5аR1 – ключевой игрок в потере эндотелиальной тромборезистентности. У пациентов с тяжелым течением COVID-19, наряду с активацией системы комплемента, спровоцированной коронавирусной инфекцией, развивается ОРДС. При этом С5а, добавленный к нормальной человеческой сыворотке, приводит к предтромбозу, вызывая RalA-опосредованный экзоцитоз vWF и Р-селектина из телец Вайбеля–Паладе, что способствует дальнейшему связыванию vWF с эндотелием, а также адгезии и агрегации тромбоцитов. Представленные результаты (Varatharajah, Rajah, 2020) подтверждают, что С5а/С5аR1 является протромбогенным эффектором при COVID-19.

На основании исследований и изучения данных литературы предложена (Mukund et al., 2020) следующая схема взаимосвязи между фибринолизом, системой комплемента и активацией тромбоцитов при COVID-19 (рис. 6).

Все приведенные данные свидетельствуют о чрезвычайно важной роли тромбоцитов в возникновении тромбоэмболических состояний при COVID-19. При этом они не позволяют говорить о том, что тромбоциты напрямую способны воздействовать на фибриноген, минуя тромбин. Однако тромбоциты через лектиновый путь активации системы комплемента и образующиеся фрагменты С3а и С5а могут опосредованно, минуя образование тромбина, способствовать формированию фибринового сгустка (Jenny et al., 2015, 2019; Bumiller-Bini et al., 2021).

Тромбоциты и цитокиновый шторм

Известно, что ОРДС, вызванный инфекцией SARS-CoV-2, возникает в результате цитокинового шторма. Синтез и секреция воспалительных цитокинов и хемокинов, наблюдаемые в легких при аутопсии, обусловлены активацией моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, Т-лимфоцитов, тромбоцитов, что приводит к полиорганной недостаточности и даже летальным исходам. При этом значительно активируются цитокины IL-6, IL-1 β , TNF- α и хемокины CCL2, CCL3 и CCL5, что и представляет угрозу существованию организма (Harrison, 2020; Allaoui et al., 2021).

Цркулирующие тромбоциты пациентов содержат SARS-CoV-2 в четкой корреляции с летальным исходом. Тромбоциты, содержащие SARS-CoV-2, происходят из мегакариоцитов (МК) костного моз-

способны одновременно взаимодействовать с нейтрофилами, высвобождать α -гранулы и С3, а также различные цитокины, включая CCL2, CCL3, CCL7, IL-1 β , IL-7, IL-8 и фактор роста гепатоцитов, и тем самым усиливать цитокиновый шторм и способствовать тромбообразованию (Ye et al., 2020).

Известно, что SARS-CoV-2 связывается с тромбоцитами через рецептор ACE2, после чего вирусный гемагглютинин расщепляется TMPRSS2 и таким образом активирует интернализацию вируса. Такое расщепление запускает активацию тромбоцитов и последующие сигнальные события, ведущие к цитокиновому шторму, агрегации тромбоцитов и образованию агрегатов лейкоциты–тромбоциты. Сочетание цитокинового шторма, активации тромбоцитов, отторжения микровезикул и иммунотромботических событий приводит к нарушению целостности клеток, острому повреждению легких, тромбоэмболиям, полиорганной недостаточности и даже смерти (Allaoui et al., 2021).

Вирус-индуцированные изменения тромбоцитов, нейтрофилов и эндотелиальных клеток — решающие триггеры тромботических осложнений и неблагоприятного течения COVID-19 (Falcinelli et al., 2022). Прямое взаимодействие с вирусом и связанный с ним цитокиновый шторм одновременно запускают активацию клеток в классическом тромбовоспалительном порочном круге.

Не вызывает сомнений, что тромботические осложнения как маркеры тяжелого течения COVID-19 связаны с полиорганной недостаточностью и повышенной смертностью. Вместе с тем, тромботические проявления при тяжелой форме COVID-19 обусловлены способностью SARS-CoV-2 проникать в эндотелиальные клетки через ACE2 (McFadyen et al., 2020). Однако у пациентов с COVID-19 последующее воспаление эндотелия, активация комплемента, образование тромбина, рекрутирование тромбоцитов и лейкоцитов, инициация врожденных и адаптивных иммунных ответов (цитокиновый шторм) завершаются иммунотромбозом, что, в конечном итоге, вызывает (микро)тромботические осложнения — поражение глубоких вен, тромбоз, легочную эмболию, инфаркт миокарда и инсульт (Fox et al., 2020; Di Gennaro et al., 2022).

Возникающие под влиянием SARS-CoV-2 тромбозы связаны с эндотелиальной и тромбоцитарной дисфункцией, высвобождением IL-6, TF и vWF (Beura et al., 2021). Все эти соединения, а также образующийся тромбин усиливают активацию тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов индуцирует их высокое потребление. В то же время IFN-I, связываясь с TLRs, ингибирует образование мегакариоцитов тромбоцитов. В совокупности все эти процессы приводят к тромбоцитопении. Деградация фибриногена сопровождается образованием D-димера и других тромбогенных

молекул, ведущих к ВТЭ, ДВС-синдрому и тромботической микроангиопатии (Beura et al., 2021).

SARS-CoV-2 вызывает инфильтрацию воспалительных клеток, приводящую к избыточной продукции цитокинов, протеаз, факторов свертывания крови, кислородных радикалов и вазоактивных молекул, что приводит к повреждению эндотелия, к разрушению фиброзной покрышки и к инициации образования тромба. Одновременно возникает вазоконстрикция и активация тромбоцитов за счет напряжения сдвига. В результате развившийся цитокиновый шторм сопровождается секрецией TF без последующего усиления контррегуляторных путей — антитромбина III, активированного протеина C и tPA. Наконец, приток CD4⁺ Т-клеток в сердечно-сосудистую систему приводит к увеличению продукции цитокинов, стимулирующих миграцию клеток гладкой мускулатуры в интиму, выработку коллагена и других волокнистых продуктов, что ведет к продвижению липидных полос к выраженным атеросклеротическим поражениям. Прямое повреждение миокарда и цитокиновый шторм, приводящий к дестабилизации ранее существовавших и ускоренному образованию новых бляшек, — два механизма, провоцирующие острый коронарный синдром при COVID-19 (Sheth et al., 2020; Kerch, 2023).

Имеющиеся в настоящее время исследования показывают, что коагулопатия при COVID-19 представляет собой сочетание локального потребления тромбоцитов в легких, ДВС низкой степени и тромботической микроангиопатии. В тяжелых случаях COVID-19 гипервоспаление и цитокиновый шторм являются наиболее существенными факторами, приводящими к эндотелиальной дисфункции, активации тромбоцитов и развитию тромбоэмболических осложнений (Vadasz et al., 2020; Xiang et al., 2022). В этой связи интерес представляют различные циркулирующие биомаркеры воспалительной коагуляции, участвующие непосредственно в свертывании крови, в особенности: фибрин/фибриноген, D-димеры, Р-селектин, UL-vWF, растворимый тромбомодулин и TF — усиливающие воспаление и гиперкоагуляцию у тяжелобольных COVID-19. Центральное место в активности этих биомаркеров занимают их рецепторы и сигнальные пути на эндотелиальных клетках, тромбоцитах, моноцитах и эритроцитах (Allaoui et al., 2021). Важно также отметить, что гиперактивированный фенотип тромбоцитов, наряду с признаками цитокинового шторма, высоким уровнем Р-селектина, D-димера, а также повышенная концентрация фибриногена, vWF и тромбоцитопения могут считаться типичными биомаркерами, характерными для поздней стадии прогрессирования COVID-19 у критически больных пациентов (Березовская и др., 2022; Barale et al., 2021).

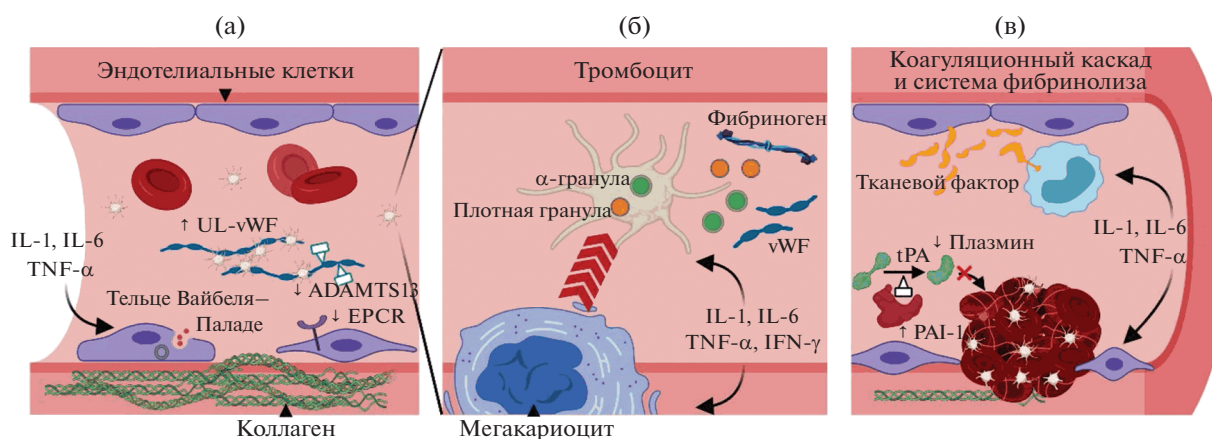


Рис. 7. Патогенез коагулопатии, связанной с цитокиновым штормом (по: Barale et al., 2021, адаптировано). (а) Провоспалительные цитокины IL-1, IL-6 и TNF- α могут стимулировать эндотелиальные клетки к секреции телец Вайбеля—Паладе, которые содержат сверхбольшой vWF (UL-vWF) и Р-селектин, — оба необходимы для прикрепления тромбоцитов. Более того, цитоскелеты эндотелиальных клеток перестраиваются, чтобы обнажить прокоагулянтный коллаген. Экспрессия белков-антикоагулянтов — EPCR (рецепторов эндотелиального белка С) и ADAMTS13 — также подавляется. (б) Цитокиновый шторм, в том числе IL-1, IL-6, TNF- α и IFN- γ оказывают влияние на количество и качество тромбоцитов. Созревание мегакариоцитов ускоряется, что приводит к большему количеству тромбоцитов. Эти цитокины могут также стимулировать высвобождение плотных гранул и α -гранул, содержащих важные субстраты свертывания крови — фибриноген и vWF. (в) Цитокины IL-1, IL-6 и TNF- α могут повышать экспрессию ТФ эндотелиальных клеток и моноцитов. Кроме того, фибринолитическая система ингибируется повышенной экспрессией PAI-1, который деактивирует tPA и приводит к уменьшению концентрации плазмينا, ADAMTS13, дезинтегрин, металлопротеиназы, интерферона.

Существует мнение (Gao et al., 2021), что цитокиновый шторм может быть лишь верхушкой айсберга, и представления о механизмах его возникновения и протекания следует использовать с осторожностью для объяснения патогенеза ухудшения течения COVID-19, который может быть более сложным и связанным в значительной мере с воспалением, иммунитетом, свертыванием крови и функциями многих органов. Но наш опыт (Кузник, Хавинсон, 2020; Кузник и др., 2020, 2022), а также приводимые в данном фрагменте обзора сведения говорят об обратном. Цитокиновый шторм — основание, на котором зиждется большинство сдвигов, в том числе и активация тромбоцитов, развитие гиперкоагуляции и тромбоэмболических осложнений.

С учетом множества аспектов цитокинового шторма предложена (Wang, Doran, 2021) следующая схема взаимодействия лейкоцитов и тромбоцитов в механизме возникновения гиперкоагуляции и тромбоза при COVID-19 (рис. 7).

Все представленные данные свидетельствуют о том, что тромбоцитам принадлежит существенная доля в формировании у критических больных COVID-19 цитокинового шторма. При этом гиперпродукция провоспалительных цитокинов ведет к активации тромбоцитов и к усилению повреждения эндотелиальных клеток, что усугубляет процессы адгезии и агрегации тромбоцитов, и, следовательно, к развитию тромбоза. Все это может через шиповидный белок S SARS-CoV-2

способствовать развитию альтернативных механизмов гиперкоагуляции и тромбоэмболий.

Тромбоциты и лейкоциты

Взаимодействие тромбоцитов и лейкоцитов у больных COVID-19 значительно усиливает процесс свертывания крови и нередко приводит к тромбоэмболическим осложнениям, полиорганной недостаточности и летальному исходу. Р-селектин — важный рецептор для формирования агрегатов тромбоцитов—лейкоцитов — вступает во взаимодействие с PSGL-1, обеспечивая адгезию активированных тромбоцитов к лейкоцитам. Тромбоцитарно-нейтрофильные и тромбоцитарно-моноцитарные агрегаты, являясь *in vivo* чувствительными индикаторами активации тромбоцитов, у пациентов с COVID-19 значительно повышены (Middleton et al., 2020). Аналогичный результат — значительное увеличение числа тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов — наблюдается при обработке SARS-CoV-2 и шиповидным белком S *in vitro* цельной крови здоровых людей (Zhang S. et al., 2020).

При внедрении SARS-CoV-2 в организм хозяина наблюдается усиленная реакция со стороны защитных систем, сопровождаемая aberrантной активацией нейтрофилов, особенно в легких. При вскрытии трупов больных COVID-19 обнаружена нейтрофильная инфильтрация легочных капилляров, острый капиллярит с отложением фибрина, экстравазация нейтрофилов в

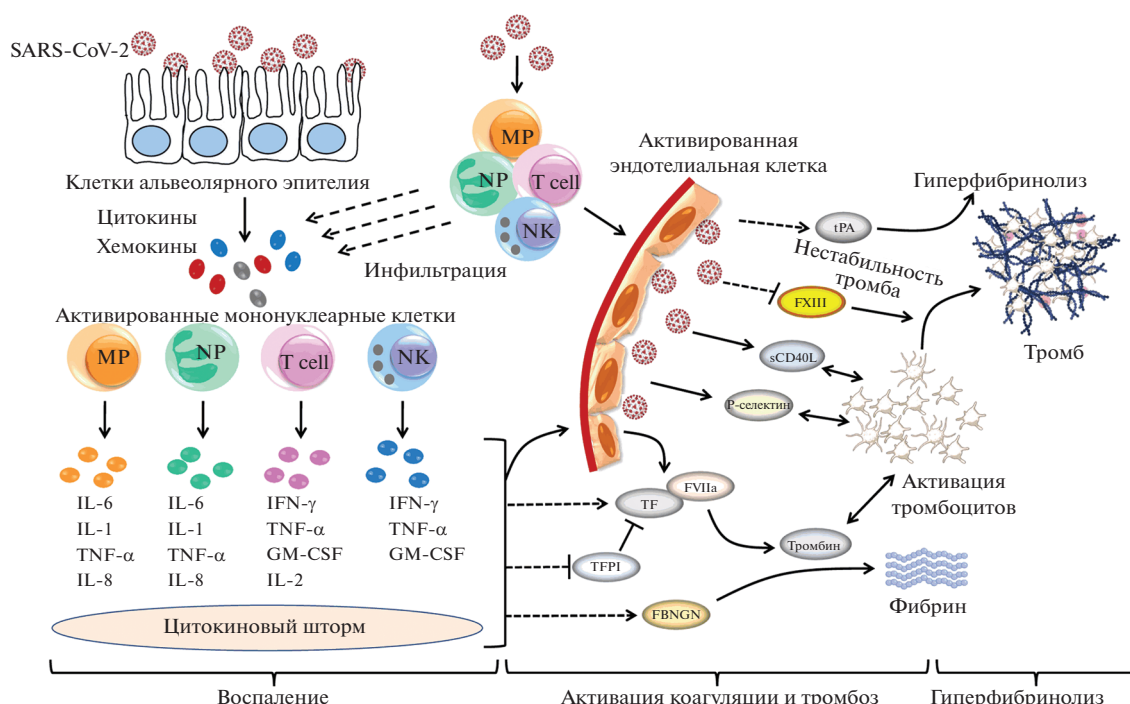


Рис. 8. Схема, отражающая роль SARS-CoV-2 в индукции воспаления и тромбоэмболизма. Объяснение в тексте (по: Ahmad et al., 2022, адаптировано).

альвеолярное пространство и нейтрофильный мукозит (Barnes et al., 2020). Нейтрофилия предсказывает плохие исходы у пациентов с COVID-19, а соотношение нейтрофилов и лимфоцитов — независимый фактор риска тяжелого заболевания (Zuo et al., 2020). Кроме того, в сыворотке пациентов с COVID-19 наблюдается повышение уровня NET-специфических маркеров: ДНК миелопероксидазы и цитруллинированного гистона H3 (Mizurini et al., 2021).

Прямое взаимодействие SARS-CoV-2 с рецепторами тромбоцитов ACE2 и CD147 активирует различные внутриклеточные сигнальные пути, приводящие в конечном итоге к C3-индуцированному нетозу. Эти пути активации повышают экспрессию P-селектина и CD40L и образование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов. Цитокиновый шторм стимулирует JAK2, STAT3 и NF-κB, что сопровождается гиперактивацией тромбоцитов. В свою очередь активированные лейкоциты через высвобождаемые ими медиаторы могут приводить к гиперактивации тромбоцитов. NETs и их компоненты, кателицидин и хемокины, особенно фактор активации тромбоцитов PAF (platelet-activating factor), взаимодействующие с GPCRs (G-protein-coupled receptors), а также АФК и протеолитические ферменты индуцируют образование фибрина. Все это усиливает активацию тромбоцитов и их прокоагулянтную функцию, что способствует возникновению тромбозов (Ghasezmazdeh et al., 2022).

При воспалении и тромбоэмболии, вызванных SARS-CoV-2, наблюдается секреция цитокинов и хемокинов, индуцированная повреждением альвеолярных эпителиальных клеток. При этом управляемые иммунные реакции включают в очаг инфекции или воспаления инфильтрацию макрофагов (MP), нейтрофилов (NP), NK-клеток и Т-клеток (рис. 8). Более того, кроме инфицирования клеток альвеолярного эпителия, инфильтрация и активация иммунных клеток усиливают высвобождение медиаторов воспаления, ответственных за возникновение цитокинового шторма. Индукция воспалительной реакции также активирует эндотелиальные клетки и запускает экспрессию TF на множестве клеток и в то же время снижает уровень TFPI (tissue factor pathway inhibitor), препятствующего активации TF. Системное воспаление, вызванное SARS-CoV-2, приводит к высвобождению P-селектина и sCD40L, которые вместе с тромбином активируют тромбоциты, что еще больше повышает образование тромбина, P-селектина и sCD40L и обеспечивает положительную обратную связь при активации тромбоцитов и тромбообразовании. Ослабленный уровень FXIII при тяжелом течении COVID-19 может дестабилизировать сгусток и вызвать ВТЭ. Более того, индукция tPA приводит к нарушению фибринолиза и избыточному образованию D-димера (Ahmad et al., 2022).

Инфильтрация провоспалительных моноцитов после инфекции SARS-CoV-2 — показатель

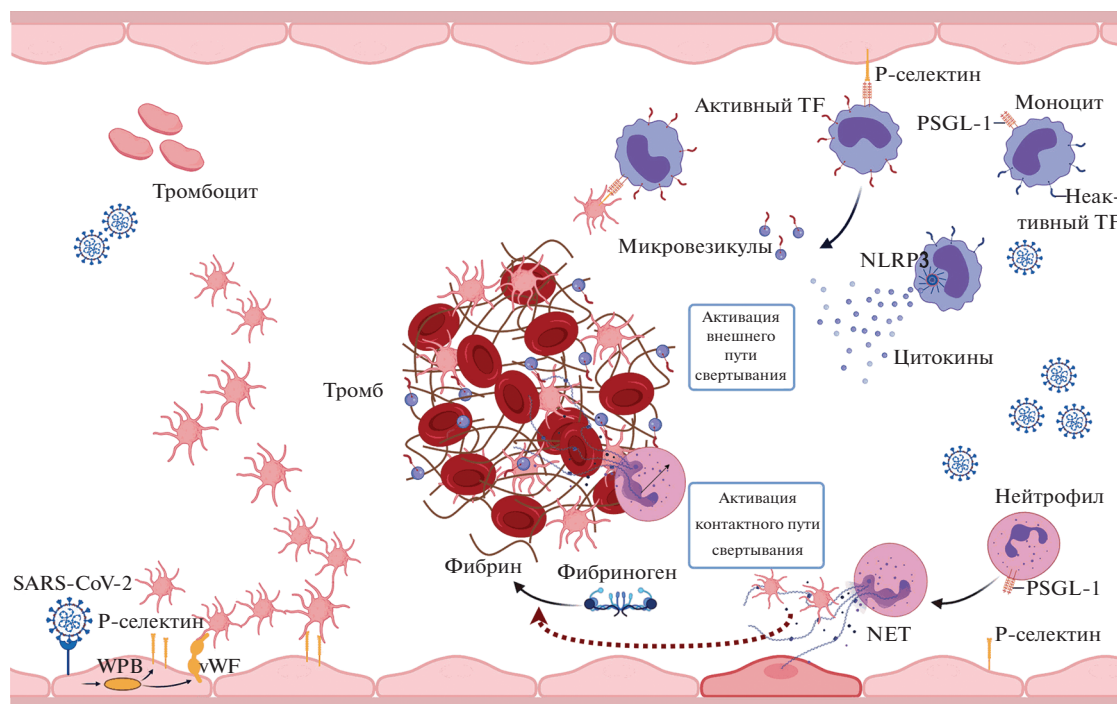


Рис. 9. Роль тромбоцитов, нейтрофилов и моноцитов в формировании тромба под влиянием SARS-CoV-2 (WPB – Weibel–Palade bodies). Объяснение в тексте (по: Mizurini et al., 2021, адаптировано).

гипервоспалительной реакции, отвечающей за цитокиновый шторм, наблюдаемый во время острой фазы в тяжелых случаях течения заболевания (Liao et al., 2020). Анализ бронхоальвеолярной жидкости у тяжелых пациентов с COVID-19 выявил повышенное число мононуклеарных фагоцитов, состав которых у таких больных показал более низкую долю тканевых альвеолярных макрофагов и более высокую часть макрофагов, происходящих из воспалительных моноцитов. Но секвенирование одно-клеточной РНК периферической крови пациентов с COVID-19 выявило сниженное количество неклассических и промежуточных моноцитов и нарушение иммунного ответа миелоидными клетками со сниженной экспрессией цитокинов IL-6, TNF- α и IL-1 β . Поскольку уровень провоспалительных цитокинов у инфицированных SARS-CoV-2 в плазме повышен, эти результаты позволяют высказать предположение о тканевом происхождении цитокинов в плазме (Arunachalam et al., 2020).

SARS-CoV-2 способствует образованию тромба путем вовлечения самых различных клеток в нити фибрина (Mizurini et al., 2021). Инфекция SARS-CoV-2 запускает врожденный иммунный ответ, что приводит к активации моноцитов, способствующих развитию провоспалительного цитокинового шторма. Этот процесс сопровождается рекрутированием нейтрофилов, эндотелиальных клеток и активацией тромбоцитов. Стимуляция эндотелиоцитов ведет к экспрессии vWF и молекул адгезии, что еще больше усиливает рекрутирова-

ние и активацию тромбоцитов. При этом экспрессия гликопротеина α IIb β 3, обеспечивающая взаимодействие фибриногена с тромбоцитами и усиливающая их агрегацию и транслокацию P-селектина к поверхности тромбоцитов, приводит к образованию агрегатов тромбоцитов и нейтрофильно-тромбоцитарных агрегатов. Взаимодействие между тромбоцитами, моноцитами и провоспалительными цитокинами усиливает экспрессию TF и высвобождение его в отшнуровавшихся микровезикулах. Затем TF связывается с FVII, активируя коагуляцию. Инфекция SARS-CoV-2 может активировать воспаление NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3), что сопровождается увеличением продукции IL-1 β и, следовательно, гиперкоагуляцией. SARS-CoV-2-опосредованный цитокиновый шторм способствует устойчивому рекрутированию и активации нейтрофилов, кульминацией которого является образование NETs и формирование тромба (рис. 9).

В настоящее время трудно решить вопрос, предшествует ли при COVID-19 активация тромбоцитов образованию NETs или тромбоциты напрямую способствуют развитию имунотромбоза со всеми вытекающими отсюда последствиями. Не исключено, что нейтрофилы сначала действуют путем стимуляции образования NETs и инициируют последующий коагуляционный каскад. Наблюдаемая нейтрофилия, а также корреляция между маркерами NETs и коагулопатией подтверждают эту схему. Тем не менее, тромбоциты так-

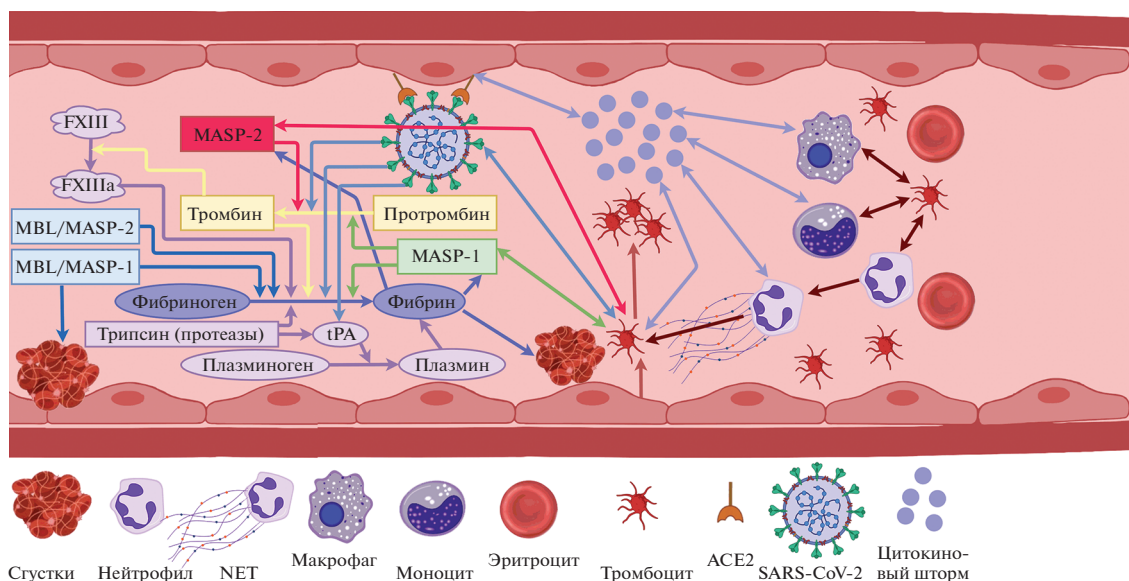


Рис. 10. Альтернативный механизм развития гиперкоагуляции и тромбообразования при COVID-19 (оригинальная схема). Объяснение в тексте.

же способны активироваться вирусом. Логично предположить, что оба каскада влияют друг на друга, поскольку и нейтрофилы, и тромбоциты могут вступать в контакт с вирусными частицами и представляющими опасность продуктами разрушения клеток — DAMPs, а также усиливать цитокиновый шторм, который у тяжелобольных COVID-19 проявляется острыми системными воспалительными симптомами с вторичной полиорганной дисфункцией (Wienkamp et al., 2022).

Полагают (Ahmed et al., 2020), что эндотелиальная дисфункция, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы с высвобождением PAI-1, активированные тромбоциты, а также цитокиновый шторм, сопровождаемый резким увеличением концентрации провоспалительных агентов — IL-6, IL-10 и TNF- α , вносят существенный вклад в тромбообразование. При этом активируются нейтрофилы, увеличивается число NETs, возрастает концентрация триптаз, в том числе трипсина, что в конечном итоге приводит не только к развитию гиперкоагуляции по классическому пути, но и к альтернативным механизмам (минуя образование тромбина) возникновения тромбоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзоре данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2, вызвавший пандемию COVID-19, постоянно развивается и быстро распространяется среди бессимптомных носителей, что увеличивает его угрозу для населения всего мира. Вирион коронавируса состоит из протеинов нуклеокапсид мембраны, оболочки и шиповидного белка S. Проникновение и прикрепление

вируса к мембране клетки-хозяина опосредуются наличием шиповидного белка S, вступающего во взаимосвязь с рецептором ACE2. После внедрения вируса его ферментативная активность снижается, что приводит к повышению проницаемости сосудов, экспрессии TF и других факторов свертывания крови в эндотелии, лейкоцитах и тромбоцитах. В ответ на внедрение SARS-CoV-2 наступает активация системы комплемента и развивается цитокиновый шторм, характеризующийся высоким уровнем провоспалительных цитокинов и хемокинов, приводящий в конечном итоге у тяжелобольных COVID-19 к развитию тромбоангиопатии (иммунотромбозу).

Наряду с классическим механизмом процесса свертывания крови (внешний и внутренний пути), при внедрении в организм хозяина SARS-CoV-2 описаны и альтернативные пути (минуя тромбин) регуляции системы гемостаза и тромбообразования, связанные в первую очередь с влиянием шиповидного белка S и папаиноподобной протеазы. Белок S непосредственно влияет на развитие гиперкоагуляции, наблюдаемой у пациентов с COVID-19. Он вызывает аномальное свертывание как в очищенном флуоресцентном фибриногене, так и в бедной тромбоцитами плазме. С помощью масс-спектрометрического анализа удалось показать, что внесение шиповидного белка S в здоровую бедную тромбоцитами плазму приводит к структурным изменениям β - и γ -фибрина/фибриногена, C3-компонента комплемента и протромбина. Альтернативный путь свертывания крови обусловлен металлопротеиназами MASP-1 и MASP-2, являющимися активаторами системы комплемента, отношением MBL к MASP-1

и MASP-2 (MBL/MASP-1 и MBL/MASP-2), а также трипсином и другими протеазами. Наконец, через tPA белок S способен усиливать переход плазминогена в плазмин, что может приводить к развитию гиперфибринолиза.

Далеко не последняя роль в возникновении тромбоэмболических осложнений принадлежит тромбоцитам, на поверхности которых разыгрываются процессы свертывания крови по внутреннему механизму. В процессе реакции высвобождения тромбоциты выбрасывают из цитоплазмы α - и плотные гранулы, содержащие воспалительные цитокины и хемокины, что усиливает цитокиновый шторм и, следовательно, тромбообразование. Кроме того, тромбоциты косвенно — через воздействие на шиповидный белок S и MASP-1 и MASP-2, а также через формирование нейтрофильных ловушек — усиливают альтернативный (минуя тромбин) путь регуляции системы гемостаза и тромбообразования. Следует заметить, что эти влияния являются обоюдными, что способствует усилению процесса свертывания крови как по классическому, так и по альтернативному механизму (рис. 10).

Нет никакого сомнения что неудачи антикоагулянтной и дезагрегантной терапии при крайне тяжелых случаях течения COVID-19 отчасти связаны с недостаточным влиянием на альтернативные механизмы свертывания крови и тромбообразования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все проводимые мероприятия соответствовали этическим стандартам, разработанным на основе Хельсинкской декларации всемирной ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2008 г. и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Березовская Г.А., Петрищев Н.Н., Волкова Е.В. и др. Поражение сердечно-сосудистой системы при новой коронавирусной инфекции COVID-19 // Кардиология: новости, мнения, обучение. 2022. Т. 10 (4). С. 37–47.
<https://doi.org/10.33029/2309-1908-2022-10-4-37-47>
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х. Влияние тималина на системы иммунитета, гемостаза и уровень цитокинов у пациентов с различными заболеваниями. Перспективы применения при COVID-19 // Врач. 2020. Т. 31 (7). С. 18–26.
<https://doi.org/10.29296/25877305-2020-07-03>
- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции // Усп. физиол. наук. 2020. № 4. С. 51–63.
<https://doi.org/10.31857/S0301179820040037>
- Кузник Б.И., Шаповалов К.Г., Смоляков Ю.Н. и др. Морфологический состав и показатели свертывающей системы крови у пациентов среднего и пожилого возраста с COVID-19 при лечении тоцилизумабом и тималином // Усп. геронтол. 2022. Т. 35 (3). С. 368–373.
<https://doi.org/10.34922/AE.2022.35.3.006>
- Кузник Б.И., Ройтман Е.В., Цыбиков Н.Н. и др. Полипотентные механизмы регуляции системы гемостаза и тромбообразования при COVID-19 // Тромбоз, гемостаз, реология. 2023. № 2. (в печати)
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И. Осложнения у больных COVID-19. Предполагаемые механизмы коррекции // Клин. мед. 2020. Т. 98 (4). С. 256–265.
- 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.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432>
- Ahmad F., Kannan M., Ansari A.W. Role of SARS-CoV-2-induced cytokines and growth factors in coagulopathy and thromboembolism // Cyt. Growth Factor Rev. 2022. V. 63. P. 58–68.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.10.007>
- Ahmed S., Zimba O., Gasparyan A.Y. Thrombosis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) through the prism of Virchow's triad // Clin. Rheumatol. 2020. V. 39 (9). P. 2529–2543.
<https://doi.org/10.1007/s10067-020-05275-1>
- Allaoui A., Khawaja A.A., Badad O. et al. Platelet function in viral immunity and SARS-CoV-2 infection // Semin. Thromb. Hemost. 2021. V. 47 (4). P. 419–426.
<https://doi.org/10.1055/s-0041-1726033>
- Al-Samkari H., Leaf R.S.K., Dziki W.H. et al. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection // Blood. 2020. V. 136 (4). P. 489–500.
<https://doi.org/10.1182/blood.2020006520>
- Al-Tamimi A.O., Yusuf A.M., Jayakumar M.N. et al. SARS-CoV-2 infection induces soluble platelet activation markers and PAI-1 in the early moderate stage of COVID-19 // Int. J. Lab. Hematol. 2022. V. 44 (4). P. 712–721.
<https://doi.org/10.1111/ijlh.13829>
- Arunachalam P.S., Wimmers F., Mok C.K.P. et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans // Science. 2020. V. 369. P. 1210–1220.
<https://doi.org/10.1126/science.abc6261>
- Barale C., Melchionda E., Morotti A., Russo I. Prothrombotic phenotype in COVID-19: focus on platelets // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22 (24). P. 13638.
<https://doi.org/10.3390/ijms222413638>
- Barnes B.J., Adrover J.M., Baxter-Stoltzfus A. et al. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps // J. Exp. Med. 2020. V. 217 (6). P. e20200652.
<https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- Barrett T.J., Cornwell M., Myndzar K. et al. Platelets amplify endotheliopathy in COVID-19 // Sci. Adv. 2021. V. 7 (37). P. eabh2434.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abh2434>

- Beura S.K., Panigrahi A.R., Yadav P., Singh S.K. Phytochemicals as potential therapeutics for SARS-CoV-2-induced cardiovascular complications: thrombosis and platelet perspective // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12. P. 658273. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.658273>
- Bumiller-Bini V., De Freitas Oliveira-Toré C., Carvalho T.M. et al. MASPs at the crossroad between the complement and the coagulation cascades – the case for COVID-19 // *Genet. Mol. Biol.* 2021. V. 44 (1). P. e20200199. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0199>
- Bye A.P., Hoepel W., Mitchell J.L. et al. Aberrant glycosylation of anti-SARS-CoV-2 spike IgG is a prothrombotic stimulus for platelets // *Blood.* 2021. V. 138 (16). P. 1481–1489. <https://doi.org/10.1182/blood.2021011871>
- Canaday D.H. SARS-CoV-2 antibody responses to the ancestral SARS-CoV-2 strain and Omicron BA.1 and BA.4/BA.5 variants in nursing home residents after receipt of bivalent COVID-19 vaccine – Ohio and Rhode Island, September–November 2022 // *MMWR.* 2023. V. 72 (4). P. 100–106. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7204a4>
- Candeloro M., Schulman S. Arterial thrombotic events in hospitalized COVID-19 patients: a short review and meta-analysis // *Semin. Thromb. Hemost.* 2023. V. 49 (1). P. 47–54. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1749661>
- Chen J.M. Novel statistics predict the COVID-19 pandemic could terminate in 2022 // *J. Med. Virol.* 2022. V. 94 (6). P. 2845–2848. <https://doi.org/10.1002/jmv.27661>
- Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation // *Blood.* 2020. V. 135 (23). P. 2033–2040. <https://doi.org/10.1182/blood.2020006000>
- Conway E.M., Prydzial E.L.G. Complement contributions to COVID-19 // *Curr. Opin. Hematol.* 2022. V. 29 (5). P. 259–265.
- Cugno M., Meroni P.L., Gualtierotti R. et al. Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity // *J. Autoimmun.* 2021. V. 116. P. 102560. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102560>
- D'Ardes D., Boccatonda A., Cocco G. et al. Impaired coagulation, liver dysfunction and COVID-19: discovering an intriguing relationship // *World J. Gastroenterol.* 2022. V. 28 (11). P. 1102–1112. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i11.1102>
- Di Gennaro C., Galdiero M., Scherillo G. et al. Editorial COVID-19 and thrombosis 2023: new waves of SARS-CoV-2 infection, triage organization in emergency department and the association of VOCs/VOI with pulmonary embolism // *Viruses.* 2022. V. 14 (11). P. 2453. <https://doi.org/10.3390/v14112453>
- Diao B., Wang C.H., Wang R.S. et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection // *medRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.04.20031120>
- Escher R., Breakey N., Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation // *Thromb. Res.* 2020. V. 190. P. 62. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.014>
- Falcinelli E., Petito E., Gresele P. The role of platelets, neutrophils and endothelium in COVID-19 infection // *Expert Rev. Hematol.* 2022. V. 15 (8). P. 727–745. <https://doi.org/10.1080/17474086.2022.2110061>
- Fox S.E., Akmatbekov A., Harbert J.L. et al. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans // *Lancet Respir. Med.* 2020. V. 8 (7). P. 681–686. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30243-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30243-5)
- Frithiof R., Rostami E., Kumlien E. et al. Critical illness polyneuropathy, myopathy and neuronal biomarkers in COVID-19 patients: a prospective study // *Clin. Neurophysiol.* 2021. V. 132 (7). P. 1733–1740. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2021.03.016>
- Fujimura Y., Holland L.Z. COVID-19 microthrombosis: unusually large vWF multimers are a platform for activation of the alternative complement pathway under cytokine storm // *Int. J. Hematol.* 2022. V. 115 (4). P. 457–469. <https://doi.org/10.1007/s12185-022-03324-w>
- Gao Y., Wang C., Kang K. et al. Cytokine storm may not be the chief culprit for the deterioration of COVID-19 // *Viral. Immunol.* 2021. V. 34 (5). P. 336–341. <https://doi.org/10.1089/vim.2020.0243>
- Gauchel N., Rieder M., Krauel K. et al. Complement system component dysregulation is a distinctive feature of COVID-19 disease // *J. Thromb. Thrombolysis.* 2022. V. 53 (4). P. 788–797. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02617-x>
- Ghasemzadeh M., Ahmadi J., Hosseini E. Platelet-leukocyte crosstalk in COVID-19: how might the reciprocal links between thrombotic events and inflammatory state affect treatment strategies and disease prognosis? // *Thromb. Res.* 2022. V. 213. P. 179–194. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2022.03.022>
- Gorog D.A., Storey R.F., Gurbel P.A. et al. Current and novel biomarkers of thrombotic risk in COVID-19: a Consensus Statement from the International COVID-19 Thrombosis Biomarkers Colloquium // *Nat. Rev. Cardiol.* 2022. V. 19 (7). P. 475–495. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00665-7>
- Grobbeelaar L.M., Venter C., Vlok M. et al. SARS-CoV-2 spike protein S1 induces fibrin(ogen) resistant to fibrinolysis: implications for microclot formation in COVID-19 // *Biosci. Rep.* 2021. V. 41 (8). P. BSR20210611. <https://doi.org/10.1042/BSR20210611>
- Grobler C., Maphumulo S.C., Grobelaar 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 (14). P. 5168. <https://doi.org/10.3390/ijms21145168>
- Gu S.X., Tyagi T., Jain K. et al. Thrombocytopathy and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation // *Nat. Rev. Cardiol.* 2021. V. 18 (3). P. 194–209. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00469-1>
- Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382 (18). P. 1708–1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
- Han H., Yang L., Liu R. et al. Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2020. V. 58 (7). P. 1116–1120.
- Harrison C. Focus shifts to antibody cocktails for COVID-19 cytokine storm // *Nat. Biotechnol.* 2020. V. 38 (8). P. 905–908.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Pöhlmann S. A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells // *Mol. Cell.* 2020. V. 78. P. 779–784. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.04.022>

- Hottz E.D., Azevedo-Quintanilha I.G., Palhinha L. et al. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19 // *Blood*. 2020. V. 136 (11). P. 1330–1341. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007252>
- Iba T., Wada H., Levy J.H. Platelet activation and thrombosis in COVID-19 // *Semin. Thromb. Hemost.* 2023. V. 49 (1). P. 55–61. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1749441>
- Jackson C.B., Farzan M., Chen B., Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2022. V. 23 (1). P. 3–20. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>
- Jenny L., Dobó J., Gál P., Schroeder V. MASP-1 induced clotting – the first model of prothrombin activation by MASP-1 // *PLoS One*. 2015. V. 10 (12). P. e0144633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144633>
- Jenny L., Noser D., Larsen J.B. et al. MASP-1 of the complement system alters fibrinolytic behaviour of blood clots // *Mol. Immunol.* 2019. V. 114. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.07.005>
- Jiang S.Q., Huang Q.F., Xie W.M. et al. The association between severe COVID-19 and low platelet count: evidence from 31 observational studies involving 7613 participants // *Br. J. Haematol.* 2020. V. 190 (1). P. e29–e33. <https://doi.org/10.1111/bjh.16817>
- Kakodkar P., Kaka N., Baig M.N. A comprehensive literature review on the clinical presentation, and management of the pandemic coronavirus disease 2019 (COVID-19) // *Cureus*. 2020. V. 12 (4). P. e7560. <https://doi.org/10.7759/cureus.7560>
- Kaur S., Singh A., Kaur J. et al. Upregulation of cytokine signalling in platelets increases risk of thrombophilia in severe COVID-19 patients // *Blood Cells Mol. Dis.* 2022. V. 94. P. 102653. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2022.102653>
- Kerch G. Severe COVID-19 A review of suggested mechanisms based on the role of extracellular matrix stiffness // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24 (2). P. 1187. <https://doi.org/10.3390/ijms24021187>
- Koupenova M. Potential role of platelets in COVID-19: implications for thrombosis // *Res. Pract. Thromb. Haemost.* 2020. V. 4 (5). P. 737–740. <https://doi.org/10.1002/rth2.12397>
- Kozarcanin H., Lood C., Munthe-Fog L. et al. The lectin complement pathway serine proteases (MASPs) represent a possible crossroad between the coagulation and complement systems in thromboinflammation // *J. Thromb. Haemost.* 2016. V. 14 (3). P. 531–545. <https://doi.org/10.1111/jth.13208>
- Krurup A., Wallis R., Presanis J.S. et al. Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2 // *PLoS One*. 2007. V. 2 (7). P. e623. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000623>
- Kuhn C.C., Basnet N., Bodakuntla S. et al. Direct Cryo-ET observation of platelet deformation induced by SARS-CoV-2 spike protein // *bioRxiv*. Preprint. 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.11.22.517574>
- Lee M.H., Perl D.P., Steiner J. et al. Neurovascular injury with complement activation and inflammation in COVID-19 // *Brain*. 2022. V. 145 (7). P. 2555–2568. <https://doi.org/10.1093/brain/awac151>
- Levi M., Thachil J., Iba T., Levy J.H. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19 // *Lancet Haematol.* 2020. V. 7 (6). P. e438–e440. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30145-9](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30145-9)
- Li T., Yang Y., Li Y. et al. Platelets mediate inflammatory monocyte activation by SARS-CoV-2 spike protein // *J. Clin. Invest.* 2022. V. 132 (4). P. e150101. <https://doi.org/10.1172/JCI150101>
- Liang Y., Fang D., Gao X. et al. Circulating microRNAs as emerging regulators of COVID-19 // *Theranostics*. 2023. V. 13 (1). P. 125–147. <https://doi.org/10.7150/thno.78164>
- Liao M., Liu Y., Yuan J. et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19 // *Nat. Med.* 2020. V. 26 (6). P. 842–844. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0901>
- Lippi G., Favaloro E.J. What we know (and do not know) regarding the pathogenesis of pulmonary thrombosis in COVID-19 // *Semin. Thromb. Hemost.* 2023. V. 49 (1). P. 27–33. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1742091>
- Liu Y., Sun W., Guo Y. et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: retrospective cohort study // *Platelets*. 2020. V. 31 (4). P. 490–496. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1754383>
- Ma L., Sahu S.K., Cano M. et al. Increased complement activation is a distinctive feature of severe SARS-CoV-2 infection // *Sci. Immunol.* 2021. V. 6. P. eabh2259. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abh2259>
- Magro C., Mulvey J.J., Berlin D. et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases // *Transl. Res.* 2020. V. 220. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.04.007>
- McFadyen J.D., Stevens H., Peter K. The emerging threat of (micro)thrombosis in COVID-19 and its therapeutic implications // *Circ. Res.* 2020. V. 127 (4). P. 571–587. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317447>
- Merad M., Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages // *Nat. Rev. Immunol.* 2020. V. 20 (6). P. 355–362. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0331-4>
- Middleton E.A., He X.Y., Denorme F. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome // *Blood*. 2020. V. 136. P. 1169–1179. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008>
- Mizurini D.M., Hottz E.D., Bozza P.T., Monteiro R.Q. Fundamentals in COVID-19-associated thrombosis: molecular and cellular aspects // *Front. Cardiovasc. Med.* 2021. V. 8. P. 785738. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.785738>
- Moraes E.C.D.S., Martins-Gonçalves R., Da Silva L.R. et al. Proteomic profile of procoagulant extracellular vesicles reflects complement system activation and platelet hyperreactivity of patients with severe COVID-19 // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022. V. 12. P. 926352. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926352>
- Morris G., Bortolasci C.C., Puri B.K. et al. The pathophysiology of SARS-CoV-2: a suggested model and therapeutic approach // *Life Sci.* 2020. V. 258. P. 118166. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118166>
- Mukund K., Mathee K., Subramaniam S. Plasmin cascade mediates thrombotic events in SARS-CoV-2 infection via complement and platelet-activating systems // *IEEE Open J. Eng. Med. Biol.* 2020. V. 1. P. 220–227. <https://doi.org/10.1109/OJEMB.2020.3014798>
- Nahum J., Morichau-Beauchant T., Daviaud F. et al. Venous thrombosis among critically ill patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) // *JAMA Netw. Open.*

2020. V. 3 (5). P. e2010478.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.10478>
- Panigada M., Bottino N., Tagliabue P. et al.* Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: a report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis // *J. Thromb. Haemost.* 2020. V. 18 (7). P. 1738–1742.
<https://doi.org/10.1111/jth.14850>
- Parums D.V.* Editorial: the XBB.1.5. (“Kraken”) subvariant of Omicron SARS-CoV-2 and its rapid global spread // *Med. Sci. Monit.* 2023. V. 29. P. e939580.
<https://doi.org/10.12659/MSM.939580>
- Passariello M., Vetrei C., Amato F., De Lorenzo C.* Interactions of spike-RBD of SARS-CoV-2 and platelet factor 4: new insights in the etiopathogenesis of thrombosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22 (16). P. 8562.
<https://doi.org/10.3390/ijms22168562>
- Perico L., Morigi M., Galbusera M. et al.* SARS-CoV-2 spike protein 1 activates microvascular endothelial cells and complement system leading to platelet aggregation // *Front. Immunol.* 2022. V. 13. P. 827146.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.827146>
- Poor H.D.* Pulmonary thrombosis and thromboembolism in COVID-19 // *Chest.* 2021. V. 160 (4). P. 1471–1480.
<https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.06.016>
- Qi F., Qian S., Zhang S., Zhang Z.* Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020. V. 526 (1). P. 135–140.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.03.044>
- Rohlfing A.K., Rath D., Geisler T., Gawaz M.* Platelets and COVID-19 // *Hamostaseologie.* 2021. V. 41 (5). P. 379–385.
<https://doi.org/10.1055/a-1581-4355>
- Santos A.P., Couto C.F., Pereira S.S., Monteiro M.P.* Is serotonin the missing link between COVID-19 course of severity in patients with diabetes and obesity? // *Neuroendocrinology.* 2022. V. 112. P. 1039–1045.
<https://doi.org/10.1159/000522115>
- Sastry S., Cuomo F., Muthusamy J.* COVID-19 and thrombosis: the role of hemodynamics // *Thromb. Res.* 2022. V. 212. P. 51–57.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2022.02.016>
- Sheth A.R., Grewal U.S., Patel H.P. et al.* Possible mechanisms responsible for acute coronary events in COVID-19 // *Med. Hypotheses.* 2020. V. 143. P. 110125.
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110125>
- Sonmez O., Sonmez M.* Role of platelets in immune system and inflammation // *Porto Biomed. J.* 2017. V. 2 (6). P. 311–314.
<https://doi.org/10.1016/j.pbj.2017.05.005>
- Stark K.* Platelet-neutrophil crosstalk and netosis // *HemaSphere.* 2019. V. 3. P. 89–91.
<https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000231>
- Suh Y.J., Hong H., Ohana M. et al.* Pulmonary embolism and deep vein thrombosis in COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Radiology.* 2021. V. 298. P. E70–E80.
<https://doi.org/10.1148/radiol.2020203557>
- 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. V. 18. P. 844–847.
<https://doi.org/10.1111/jth.14768>
- Taus F., Salvagno G., Canè S. et al.* Platelets promote thromboinflammation in SARS-CoV-2 pneumonia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020. V. 40 (12). P. 2975–2989.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.315175>
- Thachil J., Tang N., Gando S. et al.* ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19 // *J. Thromb. Haemost.* 2020. V. 18 (5). P. 1023–1026.
<https://doi.org/10.1111/JTH.14860>
- Thillai M., Patvardhan C., Swietlik E.M. et al.* Functional respiratory imaging identifies redistribution of pulmonary blood flow in patients with COVID-19 // *Thorax.* 2021. V. 76 (2). P. 182–184.
<https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-215395>
- Thomas W., Varley J., Johnston A. et al.* Thrombotic complications of patients admitted to intensive care with COVID-19 at a teaching hospital in the United Kingdom // *Thromb. Res.* 2020. V. 191. P. 76–77.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.028>
- Tiwari R., Mishra A.R., Mikaeloff F. et al.* *In silico* and *in vitro* studies reveal complement system drives coagulation cascade in SARS-CoV-2 pathogenesis // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2020. V. 18. P. 3734–3744.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.005>
- Ulanowska M., Olas B.* Modulation of hemostasis in COVID-19; blood platelets may be important pieces in the COVID-19 puzzle // *Pathogens.* 2021. V. 10 (3). P. 370.
<https://doi.org/10.3390/pathogens10030370>
- Vadasz Z., Brenner B., Toubi E.* Immune-mediated coagulopathy in COVID-19 infection // *Semin. Thromb. Hemost.* 2020. V. 46 (7). P. 838–840.
<https://doi.org/10.1055/s-0040-1714272>
- Varatharajah N., Rajah S.* Microthrombotic complications of COVID-19 are likely due to embolism of circulating endothelial derived ultralarge von Willebrand factor (eULvWF) decorated-platelet strings // *Fed. Pract.* 2020. V. 37 (6). P. 258–259.
- Violi F., Pignatelli P., Cammisotto V. et al.* COVID-19 and thrombosis: clinical features, mechanism of disease, and therapeutic implications // *Kardiol. Pol.* 2021. V. 79 (11). P. 1197–1205.
<https://doi.org/10.33963/KP.a2021.154>
- Wang J., Doran J.* The many faces of cytokine release syndrome-related coagulopathy // *Clin. Hematol. Int.* 2021. V. 3 (1). P. 3–12.
<https://doi.org/10.2991/chi.k.210117.001>
- Wienkamp A.K., Erpenbeck L., Rossaint J.* Platelets in the NETworks interweaving inflammation and thrombosis // *Front. Immunol.* 2022. V. 13. P. 953129.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953129>
- Wool G.D., Miller J.L.* The impact of COVID-19 disease on platelets and coagulation // *Pathobiology.* 2021. V. 88 (1). P. 15–27.
<https://doi.org/10.1159/000512007>
- Xiang M., Wu X., Jing H. et al.* The impact of platelets on pulmonary microcirculation throughout COVID-19 and its persistent activating factors // *Front. Immunol.* 2022. V. 13. P. 955654.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.955654>
- Xiao T., Lu J., Zhang J. et al.* A trimeric human angiotensin-converting enzyme 2 as an anti-SARS-CoV-2 agent // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2021. V. 28. P. 202–209.
<https://doi.org/10.1038/s41594-020-00549-3>
- Yang X., Yang Q., Wang Y. et al.* Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19 // *J. Thromb. Haemost.* 2020. V. 18. P. 1469–1472.
<https://doi.org/10.1111/jth.14848>
- Ye Q., Wang B., Mao J.* The pathogenesis and treatment of the “cytokine storm” in COVID-19 // *J. Infect.* 2020.

- V. 80. P. 607–613.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>
- Yu J., Yuan X., Chen H. *et al.* Direct activation of the alternative complement pathway by SARS-CoV-2 spike proteins is blocked by factor D inhibition // *Blood*. 2020. V. 136 (18). P. 2080–2089.
<https://doi.org/10.1182/blood.2020008248>
- Zhang S., Liu Y., Wang X. *et al.* SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19 // *J. Hematol. Oncol.* 2020. V. 13 (1). P. 120.
<https://doi.org/10.1186/s13045-020-00954-7>
- Zhang Y., Zeng X., Jiao Y. *et al.* Mechanisms involved in the development of thrombocytopenia in patients with COVID-19 // *Thromb. Res.* 2020. V. 193. P. 110–115.
- 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.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- Zhu A., Real F., Capron C. *et al.* Infection of lung megakaryocytes and platelets by SARS-CoV-2 anticipate fatal COVID-19 // *Cell. Mol. Life Sci.* 2022. V. 79 (7). P. 365.
<https://doi.org/10.1007/s00018-022-04318-x>
- Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H. *et al.* Neutrophil extracellular traps in COVID-19 // *JCI Insight*. 2020. V. 5 (11). P. e138999.
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.138999>

Platelet Activation and Mechanisms of Thromboembolism Formation in Patients with Severe COVID-19. Alternative Mechanisms of Hemostasis System Activity

B. I. Kuznik^a, Y. N. Smolyakov^a, *, N. N. Tsybikov^a, and K. G. Shapovalov^a

^a*Chita State Medical Academy, Chita, Russia*

**e-mail: smolyakov@rambler.ru*

The review highlights the mechanism of development of hypercoagulation and thrombosis in severe forms of COVID-19. The introduction of the SARS-CoV-2 virus into the host organism is carried out by the interaction of the spike protein S with the angiotensin-converting enzyme ACE-2, which is located in type 2 alveocytes, vascular endothelium, kidneys, liver and other organs. In the event of a serious condition in patients with COVID-19, both nonspecific and adaptive immunity are activated. Stimulation of the complement system with the appearance of C3a, C3b, C5a fragments and the membrane attack complex (MAC) creates conditions for the development of hypercoagulability. The involvement of the renin-angiotensin-aldosterone system in this process and the appearance of angiotensin 2 (Ang-2) further increase the intensity of hypercoagulability. When the SARS-CoV-2 virus enters cells, the protective reaction of the adaptive immune system can turn into a pathological one (a cytokine storm develops), characterized by a high level of pro-inflammatory cytokines IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-17, etc.) and chemokines (CCL-2, CCL-11, etc.), which ultimately leads to the development of thromboangiopathy or otherwise immunothrombosis in seriously ill patients with COVID-19. Patients with more severe lesions may develop a condition similar to DIC. At the same time, patients with COVID-19 have mild thrombocytopenia, elevated levels of fibrinogen, D-dimer, fibrinogen degradation products (FDP), which indicates intense thrombus formation, as well as short PT and APTT, due to a largely increased level of FVIII. In COVID-19, along with the classical one, an alternative pathway (bypassing thrombin) of regulation of the hemostasis system and thrombus formation appears, mainly associated with the influence of the spike protein S (PS, PROS1) of the SARS-CoV-2 virus and papain-like protease (PROS1). Protein S directly affects the conversion of fibrinogen to fibrin, as well as the activation of individual plasma coagulation factors. The alternative pathway of blood coagulation is also due to the activation of the complement system *via* the lectin pathway with the inclusion of metalloproteinases MASP-1, 2 and 3. In addition, the S protein activates tPA, which may be accompanied by hyperfibrinolysis. In seriously ill patients with COVID-19, platelets play an important role in the occurrence of thromboembolic complications. During the release reaction, platelets are released from the cytoplasm into the blood α and dense granules containing inflammatory cytokines and chemokines, which enhances the cytokine storm and, consequently, thrombus formation. By acting on the spike protein S, platelets enhance an alternative way of regulating the hemostasis system and thrombus formation.

Keywords: COVID-19, platelets, spike protein S, complement system, cytokine storm, neutrophils, monocytes, hypercoagulation, thrombosis, alternative mechanisms