



ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России

Микрочастицы плазмы крови у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме

Матвиенко О.Ю., Смирнова О.А., Силина Н.Н., Головина О.Г.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России»



**ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России**

Введение

К настоящему времени хорошо известно, что новая коронавирусная инфекция ассоциирована с повышенным риском тромботических осложнений. Течение COVID-19 сопровождается развитием «цитокинового шторма», активацией и повреждением различных клеток крови. Это может приводить к высвобождению микрочастиц (MP). Микрочастицы экспрессируют на своей поверхности тканевой фактор и отрицательно заряженные фосфолипиды, благодаря чему могут увеличивать протромботический потенциал плазмы крови. У пациентов, перенесших COVID-19, гиперкоагуляционные изменения и повышенный риск тромбоза могут сохраняться в течение некоторого времени. Большой интерес представляет изучение роли микрочастиц в поддержке данных протромботических изменений после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Цель

Оценка значения MP для развития протромботических изменений системы гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме.



ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России

Материалы и методы

- В исследование были включены 33 пациента (средний возраст 45 лет), перенесших COVID-19 в легкой форме. Пациенты не получали антитромботическую профилактику антикоагулянтными и/или антиагрегантными препаратами. Контрольную группу составили 30 человек сопоставимых по полу и возрасту.
- Количество и происхождение микрочастиц анализировали в образцах плазмы, полученных с помощью ультрацентрифугирования, с последующим ресуспендированием МР. Применяли метод проточной цитометрии (CytoFlex, Beckman Coulter, США) с использованием флуоресцентно меченых антител к поверхностным маркерам клеток: CD 41 (тромбоциты), CD 45 (лейкоциты), CD 144 (эндотелиоциты).



ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России

Материалы и методы

- Генерацию тромбина определяли методом калиброванной автоматизированной тромбинографии в свободной от тромбоцитов плазме согласно методике, предложенной Hemker Н. Использовали следующие реагенты: «FluCa kit»; «PRP-reagent», содержащий рекомбинантный тканевой фактор (1pM); «MP-reagent», содержащий отрицательно заряженные фосфолипиды (4μM), с добавлением ингибитора контактной активации (40 μ/ml). Определяли ETP (эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль*мин) и Peak (пиковое количество тромбина в образце, нМоль).
- Для оценки показателей использовали медиану (Me) и Q1 – Q3 интервал. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.



**ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России**

Результаты

Таблица 1. Характеристика МР у пациентов, перенесших COVID-19, и здоровых лиц (Me, Q1 – Q3).

| Клеточный маркер | Пациенты (N=33) | Здоровые лица (N=30) |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| CD 41+ (% событий) | 0,28 * 0,17 – 0,415 | 0,13 0,09 – 0,26 |
| CD 45+ (% событий) | 0,01 0,0 – 0,075 | 0,01 0,0 – 0,01 |
| CD 144+ (% событий) | 0,02 0,01 – 0,02 | 0,04 0,01 – 0,05 |

* - различия между пациентами и здоровыми лицами



ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России

Результаты

Таблица 2. Параметры генерации тромбина у пациентов, перенесших COVID-19, и здоровых лиц (Me, Q1 – Q3).

| Параметры | «PRP-Reagent» | | «MP-Reagent» | |
|---------------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| | Пациенты (N=33) | Здоровые лица (N=30) | Пациенты (N=33) | Здоровые лица (N=30) |
| ETP (нМоль*мин) | 562,5* 428,3-918,6,0 | 471,8 384,2-564,0 | 1263,4* 721,8-1800,4 | 566,5 453,2-708,0 |
| Peak (нМоль) | 24,4* 15,5-36,1 | 18,4 12,3-20,2 | 151,6* 87,1-214,8 | 46,3 32,9-67,2 |

* - различия между пациентами и здоровыми лицами



ФГБУ РосНИИГТ
ФМБА России

Результаты

«PRP-reagent» и «MP-Reagent» позволяют оценить генерацию тромбина, зависимую от прокагулянтных фосфолипидов и тканевого фактора микрочастиц соответственно. Достоверные различия у пациентов, перенесших COVID-19, с группой контроля были получены при использовании обоих реагентов. Также в группе пациентов было отмечено повышение количества микрочастиц тромбоцитарного происхождения.

Выводы

Микрочастицы плазмы крови, в первую очередь тромбоцитарного происхождения, увеличивают генерацию тромбина и протромботический потенциал у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, за счет отрицательно заряженных прокагулянтных фосфолипидов и тканевого фактора, находящихся на их поверхности. Циркуляция MP может поддерживать активацию системы гемостаза после перенесенного заболевания, что в свою очередь является фактором риска развития тромботических осложнений.