

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
ГОРОДА МОСКВЫ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СКОРОЙ
ПОМОЩИ ИМЕНИ Н.В. СКЛИФОВСКОГО ДЕПАРТАМЕНТА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ»

На правах рукописи

Иванов Иван Валерьевич

**Нарушения в системе гемостаза при COVID-19 в условиях
экстракорпоральной мембранной оксигенации**

3.1.12. Анестезиология и реаниматология (медицинские науки)

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Журавель Сергей Владимирович

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1. НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19 В УСЛОВИЯХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ МЕМБРАННОЙ ОКСИГЕНАЦИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Историческая справка COVID-19	9
1.2 Историческая справка ЭКМО	15
1.3 Применение экстракорпоральной мембранной оксигенации у пациентов с COVID-19	23
1.4 Показания и противопоказания к ЭКМО	26
1.5 Нарушения гемостаза при COVID-19: патогенез и риск тромботических осложнений	28
1.6 Применение ЭКМО у пациентов с COVID-19 и COVID-ассоциированные коагулопатии.....	37
1.7 Ведение пациентов с COVID-19 на ЭКМО	39
1.8 Роль антитромбина-III во время экстракорпоральной мембранной оксигенации при лечении COVID-19.....	40
1.9 Повреждение эндотелия и окислительный стресс при COVID-19 в условиях ЭКМО	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	47
2.1 Общая характеристика пациентов и дизайн исследования	47
2.2 Характеристика методов исследования.....	51
2.3 Методы интенсивной терапии	52
2.4 Методы статистического анализа.....	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ: ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОСТАЗА, ДИНАМИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА И ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ, РОЛЬ АНТИТРОМБИНА – III, АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ	56
3.1 Оценка изменений системы гемостаза при COVID-19 в условиях ЭКМО....	56

3.2 Маркеры повреждения эндотелия, окислительного стресса и воспаления при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19.....	61
3.3 Роль антитромбина-III при COVID-19 в условиях ЭКМО	79
3.4 Антикоагулянтная терапия у пациентов с COVID-19, находящихся на ЭКМО	92
ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И ЧАСТОТА ТРОМБОГЕМОМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКМО У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	108
ВЫВОДЫ	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

COVID-19 (coronavirus disease 2019) – новое инфекционное респираторное заболевание человека, вызываемое одноцепочечным, РНК-положительным вирусом SARS-COV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), появившееся внезапно и в короткий срок распространившееся повсеместно. Вспышка впервые была зафиксирована в городе Ухань (Китайская Народная республика) в декабре 2019 года. 30 января 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) присвоила этой вспышке статус чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение. 11 марта 2020 года ВОЗ объявила пандемию COVID-19. На сегодняшний день, по данным ВОЗ, выявлено 528 816 317 случаев заболевания, включая 6 294 969 летальных исходов, из них 18 343 964 подтвержденных случаев приходится на долю Российской Федерации (РФ), включая 379 363 летальных исходов (по состоянию на 06 июня 2022 года) [95].

Анализ течения случаев предшествующих респираторных вирусных инфекций (грипп А(H1N1), middle east respiratory syndrome (MERS)) позволил сделать вывод о снижении смертности у данных пациентов при использовании экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО). ВОЗ, Extracorporeal life support organization (ELSO), Министерством здравоохранения Российской Федерации (МЗ РФ) в свою очередь было рекомендовано использование ЭКМО у тяжелых пациентов, не имеющих достаточного для поддержания жизни эффекта от оптимальных режимов искусственной вентиляции легких, предполагая не только улучшение газообмена, но и минимизацию вентиляционно-индуцируемой травмы легких, баротравмы, токсического эффекта кислорода [155]. По данным ряда авторов, в частности Juri Sromicki et.al., отбор пациентов происходил и происходит достаточно скрупулезно, включая всестороннюю оценку предполагаемого исхода [146]. По данным ELSO к середине 2022 года по всему миру было зарегистрировано 14216 случаев использования методики ЭКМО у пациентов с COVID-19,

смертность среди которых составила в среднем 50%.

Немалый вклад в увеличение смертности вносят последствия тяжелых нарушений системы гемостаза. По данным публикаций о пациентах с COVID-19 на ЭКМО, как например в работах Zhen Guo et.al. и Christophe Beyls et.al., частота встречаемости клинически значимых случаев тромбозов (в том числе компонентов экстракорпорального контура) и/или кровотечений близка к 100% при проведении стандартной антикоагулянтной терапии [23, 64]. Sebastian Mang et.al., проанализировав ответы 276 специалистов ЭКМО из 98 госпиталей 30 разных стран, в докладе ELSO сообщают о том что в 13% случаев дальнейшее продолжение процедуры ЭКМО у пациентов с COVID-19 становилось невозможным по причине массивных кровотечений, преимущественно внутричерепных [104].

Таким образом, поиск оптимальной схемы коррекции нарушений системы гемостаза при использовании ЭКМО у пациентов с COVID-19 является одной из важнейших задач, стоящих перед специалистами.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения пациентов с COVID-19 в условиях экстракорпоральной мембранной оксигенации путем снижения частоты осложнений, связанных с нарушениями в системе гемостаза.

Задачи исследования:

1. Исследовать структуру нарушений гемостаза при COVID-19 у критических пациентов при проведении ЭКМО.
2. Изучить динамику системного воспаления и состояния эндотелия при COVID-19 в условиях ЭКМО.
3. Изучить частоту тромбогеморрагических осложнений при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19.
4. Определить роль антитромбина-III при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19.

Научная новизна

Впервые определены особенности изменений системы гемостаза при COVID-19 в условиях ЭКМО.

Впервые проведена оценка динамики системного воспаления и состояния эндотелия при COVID-19 в условиях ЭКМО.

Впервые установлена частота и структура осложнений тромботического и геморрагического характера у пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО.

Впервые оценена роль антитромбина-III в системе коагуляции у пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО и эффективность его использования.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость заключается в выявлении патофизиологических механизмов развития ЭКМО – ассоциированных осложнений тромботического и геморрагического характера.

Применение результатов исследования в клинической практике позволит уменьшить число осложнений, ассоциированных с нарушениями системы коагуляции.

Методология и методы исследования

Данное исследование представляет собой открытое одноцентровое, ретроспективно-проспективное исследование эффективности и безопасности изменений системы коагуляции и антикоагулянтной терапии у пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО. В качестве исследуемой популяции были выбраны пациенты с тяжелым течением COVID-19, находившиеся в ОРИТ и требующие ЭКМО-поддержки. Включено 100 пациентов с подтвержденным диагнозом НКИ COVID-19 методом ПЦР и КТ признаками пневмонии, находящихся на ЭКМО-поддержке. После подтверждения соответствия всем критериям включения и отсутствии критериев исключения пациенты были рандомизированы в 2 группы: группа пациентов со стандартной антикоагулянтной терапией, согласно Временным методическим рекомендациям (ВМР) МЗ РФ по профилактике, диагностике и лечению COVID-19 и группа применения антитромбина-III в дополнение к стандартной антикоагулянтной терапии. Начало исследования: март 2020 г.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Пациентам с COVID-19 при проведении ЭКМО свойственно гипокоагулянтное состояние системы гемостаза.
2. При COVID-19 в условиях ЭКМО у пациентов имеют место нарушения функции эндотелия независимо от динамики системного воспалительного ответа.
3. Наибольший риск осложнений тромботического и геморрагического характера, ассоциированных с проведением ЭКМО у пациентов с COVID-19, наблюдается в первую неделю интенсивной терапии.
4. Антитромбин-III является ведущим компонентом в предотвращении тромбозов при проведении ЭКМО при COVID-19.

Апробация результатов

Апробация работы состоялась на заседании проблемно-плановой комиссии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» 02.08.2022 г.

Основные положения диссертационной работы доложены на следующих конгрессах и конференциях:

1. XIX Съезд федерации анестезиологов и реаниматологов, 9 – 11 октября 2021 года, г. Москва.
2. XIX Всероссийская научно – образовательная конференция «Рекомендации и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии», секция молодых ученых, 18 мая 2022 года, г. Москва
3. II Совместный съезд РОСЭКТ и РосЭКМО, 30 сентября – 1 октября 2022 года, г. Москва.

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанная в результате проведенного исследования схема диагностики, профилактики развития и коррекции ЭКМО – ассоциированных осложнений тромботического и геморрагического характера успешно внедрена в рутинную клиническую практику ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ».

Личный вклад автора

Под руководством заведующего научным отделением анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского

ДЗМ» д.м.н. Журавеля С.В. соискатель разработал дизайн исследования, самостоятельно осуществил набор клинического материала. Автор лично выполнил работу по систематизации и статистической обработке полученных данных, проанализировал и интерпретировал полученные результаты, а также подготовил материалы к публикациям. Полученные данные автор представил в виде рисунков и таблиц. На основании полученных результатов были сформулированы выводы и даны практические рекомендации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа на тему «Нарушения в системе гемостаза при COVID-19 в условиях экстракорпоральной мембранной оксигенации» соответствует специальности 3.1.12 «Анестезиология и реаниматология».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 2 работы в виде статей в журналах, рецензируемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации и 1 работа в виде патента на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста, включая 19 рисунков и 23 таблицы и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 187 источников, из них 9 – отечественных и 176 – зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19 В УСЛОВИЯХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ МЕМБРАННОЙ ОКСИГЕНАЦИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Историческая справка COVID-19

Человечество в XXI веке столкнулось уже с тремя смертоносными вспышками коронавирусных инфекций, вызванными вирусами: SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2. Все три вируса, вызывающие развитие тяжелого острого респираторного синдрома, оказались высококонтагиозными и/или являлись причиной высокой смертности. Три года назад появилось COVID-19 – заболевание, вызываемое SARS-CoV-2, распространившееся по всему миру. 12 марта 2020 года Всемирная организация здравоохранения заявила о пандемии COVID-19.

Всплеск острой респираторной инфекции COVID-19 вновь привлек внимание всего мира к проблеме вирусных инфекций и проверил способность всех систем здравоохранения справляться с такой угрозой [82]. Коронавирус был известен своей опасностью для человека с 1960-х годов, однако, его возможность вызывать смертоносные эпидемии обнаружилась лишь в последние два десятилетия. SARS-CoV-2 относится к семейству Coronaviridae, которое относится к порядку Nidovirales [118]. Семейство содержит два подсемейства, Coronavirinae и Torovirinae. Coronavirinae делится на 4 рода: Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus и Deltacoronavirus. Род Betacoronavirus в новой классификации подразделяется на подроды Embecovirus, Sarbecovirus, Merbecovirus и Nobecovirus. SARS-CoV-2 относится к роду Betacoronavirus подроду Sarbecovirus. Коронавирусы покрыты оболочкой, круглой формы и иногда плеоморфны, достигая в диаметре от 80 до 120 нм. Вирус характеризуется наличием булавообразных шипов на поверхности [119]. Эти шипы, благодаря схожести с солнечной короной, послужили причиной названия коронавируса. Коронавирусы подвержены воздействию высоких температур и ультрафиолетового излучения, но могут сохранять жизнеспособность на протяжении многих лет при температуре до

-80°C. Эти вирусы инактивируются при температуре 56°C в течение 30 минут, а также при воздействии хлорсодержащими дезинфектантами, перуксусной кислотой и 75% этанолом [61, 63, 157].

Будучи зоонозным, коронавирус может передаваться от животных к человеку и от человека к человеку воздушно-аerosольным путем [50]. Многие животные были идентифицированы переносчиками этого вируса, однако среди всех, летучая мышь более известна как переносчик заразных для человека инфекций [13, 14]. Первые случаи заражения человека коронавирусом были отмечены в 1960 году, к ним относились как к обычной простуде. Потенциал коронавируса раскрылся гораздо позже. Задолго до начала вспышки SARS-CoV в 2002 году сообщалось о случаях заражения разными подтипами коронавирусов, вызывающих тяжелые респираторные осложнения [147]. В них входили два вида Альфа-коронавирусов HCoV-229E, HCoV-NL63 и два вида Бета-коронавирусов HCoV-OC43 и HCoV-NKU1 [163]. Так в трех вспышках инфекции в периоды 1960-1961гг., 1964-1965гг., 1966-1967гг., было зарегистрировано 1328 случаев, лишь 3% из которых были вызваны штаммом Бета-коронавируса (OC43). В 2002 году мир столкнулся с первой смертельной волной коронавирус-индуцированной болезни, названной по вызываемому синдрому Тяжелого Острого Респираторного Синдрома (ТОРС) – SARS-CoV. Десять лет спустя, другая вспышка коронавирусной инфекции была зафиксирована в Саудовской Аравии, ставшая известной как Средне-Восточный Респираторный Синдром (СВРС) MERS-CoV [163, 178].

SARS-CoV и MERS-CoV принадлежат к роду Бета-коронавирусов, семейства Коронавиридов и имеют длинную положительно-направленную одноцепочечную РНК 27.9 кб и 30.1 кб соответственно [69, 86]. Основными резервуарами-переносчиками широкого множества коронавирусов, включая SARS-CoV и MERS-CoV-подобные являются летучие мыши [49]. Передача от человека к человеку SARS-CoV и MERS-CoV происходит в основном путем нозокомиальной трансмиссии; 43,5-100% случаев локальных вспышек MERS было связано с госпиталями, схожие наблюдения были и в некоторых случаях SARS. Клиническое течение SARS и MERS было схожим, за исключением некоторых различий. Так же,

хотя патогенез MERS и остался малоизучен, патогенетическая схожесть MERS и SARS предполагается [54].

Первый случай атипичной пневмонии, вызванной SARS-CoV, был зарегистрирован в городе Фошан, Китай в ноябре 2002 г. [72, 147]. С этого момента вспышка заболевания стала быстро распространяться по всему земному шару, что вынудило Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) присвоить SARS статус «угрозы общемирового масштаба». В течение нескольких месяцев на территории Китая было сообщено о 300 случаях заболеваний, большинством заболевших были медицинские работники, затем в отсутствие ограничений, путешествия инфицированных людей привели к распространению болезни на территории других стран, включая Гонконг, Вьетнам, Канаду и множество других [147]. Для борьбы со вспышкой в марте 2003 года ВОЗ скоординировала работу широкой сети научно-исследовательских центров для определения возбудителя SARS. В одном из исследований Drosten с соавторами обнаружили новую форму коронавируса, предположительно послужившую причиной SARS [49]. Однако генетическая экспертиза, подтвердившая возникновение новой формы вируса, установила только отдаленное родство с известными коронавирусами (идентичность нуклеотидной последовательности составляла от 50 до 60%). Пандемия SARS навредила не только общественному здоровью, но и стала причиной социально-экономического кризиса, в частности на территории Китая [72, 182]. Изначально предполагалось глобальное распространение заболевания с тяжелыми экономическими последствиями для всех стран, однако своевременные действия по ограничению заболевших и контактировавших с ними, а также карантинные меры позволили эффективно ограничить распространение [72, 147]. Пандемия SARS завершилась в июле 2003 года, но заболеть успело 8096 человек, умерло 774 суммарно в 27 странах [147]. Еще несколько случаев SARS было отмечено в конце 2003 – начале 2004 года, возможно благодаря зоонотической трансмиссии благодаря циветтам (*paguna larvata*). С того времени больше случаев заболеваний человека зарегистрировано не было [13].

Десятилетие спустя, случай острой пневмонии и геморрагической лихорадки

с почечным синдромом был зарегистрирован в июне 2012 года в Саудовской Аравии. Смерть была ассоциирована с новой формой коронавируса, MERS-CoV (СВРС), обнаруженной в результате анализа мокроты пациента [168]. Незадолго до этого, вспышка острого инфекционного респираторного заболевания была зарегистрирована в госпитале города Эз-Зарка, Иордания в апреле 2012 года [43]. 11 человек, включая 8 сотрудников лечебного учреждения оказались заболевшими, один из них позже скончался. На момент вспышки причина заболевания оставалась неизвестной, эпидемиологическое исследование включая лабораторную работу не принесло убедительных результатов. Однако, после обнаружения возбудителя в Саудовской Аравии, были проведены повторные исследования сохраненных образцов мокроты и диагноз MERS-CoV подтвердился у двух погибших пациентов. Некоторое время спустя еще несколько случаев было описано на территории Великобритании и заболевание продолжило распространяться по другим частям Света благодаря путешествиям инфицированных людей. Большинство случаев было обнаружено благодаря нозокомиальной передаче. В мае 2015 года первый пациент с MERS был обнаружен в Южной Корее, вернувшись из поездки по Среднему Востоку. Уже 26 июля, за, почти, 2 месяца 186 случаев было подтверждено, включая 36 смертей и 138 выздоровевших [84]. Вспышка MERS в Южной Корее характеризовалась частой внутрибольничной инфекцией и межгоспитальной инфекцией благодаря переводам пациентов из одного лечебного учреждения в другое. Это было самой крупной вспышкой MERS вне региона стран Среднего Востока. Согласно данным ВОЗ, всего 2494 лабораторно-подтвержденных случаев MERS было зарегистрировано до ноября 2019 года, включая 858 смертей в 27 странах. Этому заболеванию были характерны такие симптомы как лихорадка, кашель, одышка. Хотя пневмония наблюдалась часто, она имела место не в каждом клиническом случае. Примечательно, некоторые лабораторно-подтвержденные случаи MERS-CoV инфекции протекали бессимптомно. Большинство из этих асимптоматических случаев было обнаружено благодаря отслеживанию контактных лиц [54, 131, 174]. В большинстве случаев инфекция распространялась от человека к человеку в условиях больницы.

Несколько исследований предположило передачу вируса к человеку от верблюдов *Camelus dromedarius*, как носителей MERS-CoV, однако точная роль этих животных в передаче вируса и конкретные пути передачи остались неизвестными [131]. Во время вспышки SARS-CoV, медицинское и научное сообщества были совершенно неподготовлены к угрозе смертельной-опасной вирусной инфекции, однако спустя десять лет врачи и ученые имели уже некоторый опыт и гораздо больший арсенал технических средств, позволяющих осуществлять более точную молекулярную диагностику, что упростило обнаружение возбудителя [65, 165].

Расцвет новой пандемии в декабре 2019 года, связанной со старой вирусной угрозой «коронавирусом» вновь показал уязвимость мирового сообщества. После SARS-CoV и MERS-CoV, COVID-19 – уже третья глобальная вспышка коронавирусной инфекции, оказавшаяся самой смертоносной. SARS-CoV-2 – новая форма коронавируса, относящаяся к роду Бета-коронавирусов, подроду Сарбековирусов, которые известны как приводящие к ТОРС [62]. Вирус эллипсоидной формы со средним диаметром 64.8 ± 11.8 , 85.9 ± 9.4 , 96.6 ± 11.8 нм по короткой, средней и длинной оси оболочки соответственно и имеет коронно-образный вид [46, 100, 162]. Шиповидные белки придают вирусу характерный вид, а число этих белков в 10 раз выше, чем у вируса гриппа и сопоставимо с ВИЧ. Шипы могут ротироваться на ножке свободно. Небольшая популяция вируса имеет Y-образные шипы с двумя головками и одной ножкой. Его РНК упаковано в рибонуклеопротеины (РНП) в полости вируса, каждая частица содержит около 30-35 РНП. SARS-CoV-2 содержит одноцепочечную положительную РНК длиной 29.8 – 29.9 килобаз, упакованную в полость 80 нм диаметром и содержит 14 открытых рамок считывания [100, 173]. Геном кодирует 16 неструктурных протеинов, вовлеченных в вирусную репликацию и транскрипцию, например РНК-зависимая РНК полимеразы и разнообразные структурные протеины, такие как гликопротеин поверхности шипа, протеин нуклеокапсида, протеины оболочки и матрицы. Исследователи установили, что SARS-CoV-2 родственен SARS-CoV, однако он отличается от обоих зоонозных коронавирусов MERS-CoV и SARS-CoV, обнаруженных в 21 веке ранее, поэтому он также носит название Новой

Коронавирусной Инфекции или SARS-CoV-2. При сравнении геномов SARS-CoV-2 только на 79,5% и 40% гомологичен SARS-CoV и MERS-CoV соответственно. Сравнение геномов SARS и SARS-CoV-2 показало 380 аминокислотных замещений между SARS-CoV-2 и прочими SARS-подобными вирусами. 27 мутаций имеют отношение к S-белку [162]. Это может являться причиной изменившейся частоты заражений. Внешний субдомен SARS-CoV-2, который связывается с рецептором лишь на 40% гомологичен другим SARS-провоцирующим коронавирусам [171]. В филогенетическом древе SARS-CoV и SARS-CoV-2 относятся к одной ветви, тогда как MERS-CoV к другой [545].

Следует отметить, что симптомы, эпидемиологические особенности, инкубационный период и радиологическая картина COVID-19 почти идентичны SARS [47]. Обычно, инфекции, ассоциированные с коронавирусом, проявляются при участии поверхностных рецепторов мембраны клетки пораженного организма. Изначально считалось, что SARS-CoV проникает в клетку хозяина путем прямого слияния с плазматической мембраной, но позже было установлено, что вирус попадает в клетку через pH- и рецептор-опосредованный эндоцитоз. Коронавирус внедряется в клетки хозяина в процессе клатрин-зависимого эндоцитоза, в процессе которого S-белки (шиповидные гликопротеины), расположенные на поверхности коронавируса, распознают и прикрепляются к рецепторам на поверхности клетки хозяина [164, 168]. Эти структурные белки являются ключевыми для соединения и инфицирования коронавируса, который состоит из двух субъединиц S1 и S2. S1 субъединица содержит рецептор-связывающий домен (RBD-receptor binding domain) и крепится к клеточному рецептору, а S2 субъединица способствует процессам слияния и входа [100]. Но, разные типы коронавирусов используют разные клеточные рецепторы для проникновения в клетки хозяина [183]. Например, HCoV-229E использовал аминокептидазу-N как рецептор, тогда как SARS-CoV и MERS-CoV использовали ACE2 и DPP4 (CD26) рецепторы соответственно. С другой стороны, COVID-19 использует ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) рецепторы для прикрепления к клеткам хозяина так же, как и SARS-CoV [183]. В отличие от других форм

коронавируса, представлявших низкую патогенность, SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 приводили к серьезным вспышкам заболеваний с острыми симптомами и высокой смертностью. В частности, тяжесть инфекции SARS-CoV-2 связывается с гиперактивацией Т-лимфоцитов, что подтверждается результатами патоморфологических исследований. Острые иммунные повреждения пациентов с COVID-19 являются следствием активации Th17 лимфоцитов и снижения числа и повышения цитотоксичности CD8 Т лимфоцитов [58].

1.2 Историческая справка ЭКМО

В последние годы экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) все чаще используется в клинической практике, с ее помощью удалось спасти жизни многих пациентов, а сама технология имеет значительный потенциал для более широкого использования – как в крупных многопрофильных лечебно-профилактических учреждениях, так и при оказании помощи специализированными бригадами скорой помощи, имеющими высокотехнологическое оснащение [5].

Технология по своей сути является модификацией аппарата искусственного кровообращения, повсеместно и рутинно используемого в кардиохирургии. В 21 веке экстракорпоральные технологии можно смело назвать «ведущими» при лечении пациентов с жизнеугрожающими состояниями. К ним относятся различные виды заместительной почечной терапии, сорбционные методики, «искусственная печень» и вспомогательные устройства, замещающие насосную функцию сердца и газообменную функцию легких.

Попытки смешать газ и кровь и осуществлять газообмен вне организма человека предпринимались еще в 19 веке, но заканчивались без успеха, в связи с активацией процессов тромбообразования и отсутствия механизмов влияния на свертывание крови. Открытие гепарина в начале 20-го века позволило решать эту сложную задачу контроля системы гемостаза [98].

Годом рождения ЭКМО как методики можно назвать 1929 г., когда в Союзе

Советских Социалистических Республик Брюхоненко С.С. и Чечулин С. И. провели первую успешную экстракорпоральную перфузию головного мозга в эксперименте на животном. Аппарат состоял из стеклянного резервуара, в который помещалась кровь с антикоагулянтом. Авторы при помощи диафрагменных насосов осуществляли подачу крови из венозной части русла изолированной головы собаки в легочную артерию, кровь попадала в легкие, которые механически раздувались и выполняли функцию оксигенатора. Затем кровь возвращалась обратно в резервуар и направлялась в артерии, обеспечивая перфузию головного мозга. Устройство автожектора обеспечивало автоматическую регулировку нагнетания и забора крови, а также ее согревание [1].

В 1953 году первый успешный сердечно-легочной обход при операции закрытия дефекта межпредсердной перегородки у человека выполнил J.H. Gibbon. Кропотливая работа исследователя по проектированию экспериментальных пленочных оксигенаторов, которая продолжалась более 20 лет, увенчалась успехом [21] (рисунок 1).

В те годы разрабатывались различные устройства, позволявшие смешивать кровь и газ. Наиболее запоминающейся, вероятно, являлась система с оксигенатором пузырькового типа, разработанная в середине 50-х годов 20 века [37]. В этой системе подаваемая смесь газа буквально пузырилась в крови, вспененная кровь подавалась в пеногасительную камеру, конструкция схемы с ловушками позволяла улавливать пузыри воздуха, но риск воздушной эмболии оставался достаточно высоким. Кроме того, смешивание крови и газа приводило к значительному повреждению тромбоцитов и эритроцитов, а эффективность газообмена была недостаточной.

Разделение полупроницаемой мембраной потоков крови и кислорода стало революционной модификацией системы, что позволило проводить процедуру более продолжительные промежутки времени.

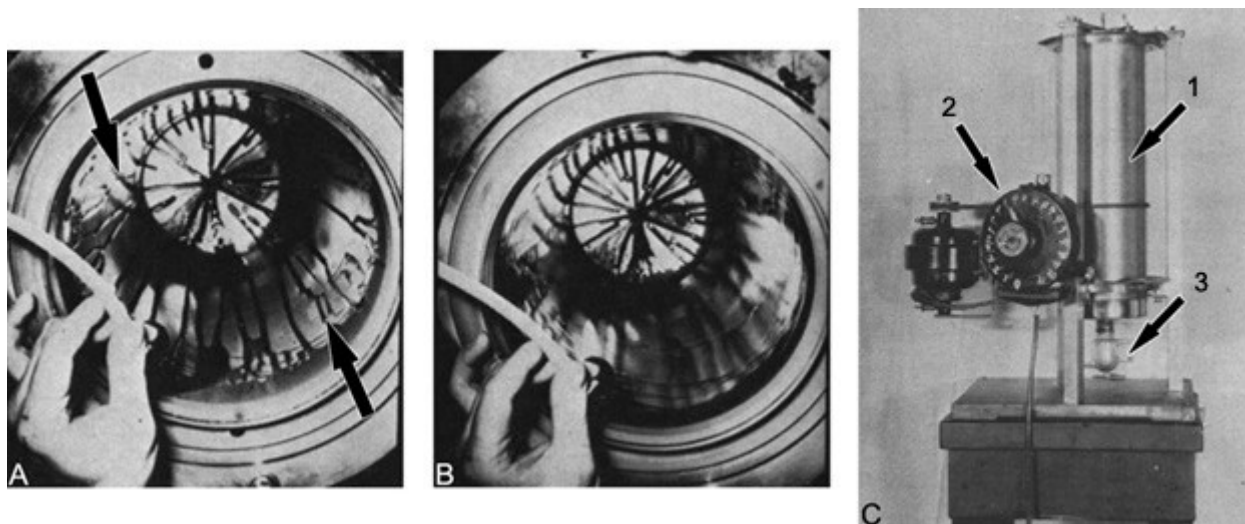


Рисунок 1. Оксигенатор Гиббона 1954 г.: в стационарных условиях кровь течет ручейками (помечены стрелками) вниз по цилиндру (А); вращение цилиндра приводит к образованию пленки крови (В); первый оксигенатор (С) состоял из вращающегося цилиндра (1), скорость которого регулировалась реостатом (2), и принимающей емкости (3) снизу для возврата крови пациенту [21].

В 1971 году J.D. Hill успешно использовал ЭКМО при лечении пациента 24 лет с травмой и развитием острого респираторного дистресс синдрома. На 4-е сутки, в связи с развитием критической дыхательной недостаточности была инициирована процедура веноартериального ЭКМО (с периферическим доступом), продолжительностью 75 часов. Объемная скорость перфузии составляла 3,0 – 3,6 л/мин. Считается, что это был первый взрослый пациент, которому новая технология помогла выжить (рисунок 2) [19].

Несколько лет спустя Bartlett сообщил о первой новорожденной, у которой применяли поддержку ЭКМО [19].

Многие специалисты в те годы были впечатлены новой технологией и начали активно применять ее. В 1974 г. последовало первое многоцентровое исследование: «Эффективность ЭКМО-терапии у взрослых пациентов с тяжелой дыхательной недостаточностью». Исследование было инициировано в США. Результаты, опубликованные в 1979 году, были не очень обнадеживающими, выживаемость в сравниваемых группах составила 9,5% и 8,3% соответственно, без достоверной разницы. Следует отметить, что авторы подчеркивали: «ЭКМО осуществляла

поддержку пациентов, но не останавливала дальнейшее прогрессирование ухудшения функции легких, не влияла на восстановление...» [179].



Рисунок 2. Аппарат ЭКМО. Первый успешный случай применения у взрослого пациента [19].

В результате исследования большинство клинических специалистов перестали применять ЭКМО при тяжелой дыхательной недостаточности.

Энтузиасты продолжали совершенствовать технику, а также исследовать другие методики поддержки пациентов с дыхательной недостаточностью.

В 1978 г. Kolobow и Gattinoni с соавторами описали использование экстракорпорального кровообращения с целью элиминации углекислого газа, что позволяет снизить потенциально вредное воздействие искусственной вентиляции. Пришло понимание, что механическая вентиляция вызывает повреждение легких при превышении определенного давления в дыхательных путях. Активная исследовательская работа в области механической вентиляции привела к разработке стратегии так называемой защитной вентиляции [87].

В то же время врачи-реаниматологи продолжали использовать ЭКМО в детской практике, и были убеждены, что спасают жизни пациентов, доказательством являлись серии успешных случаев. Педиатрические центры продолжали накапливать опыт и знания [107]. Не хватало рандомизированного исследования, которое показало бы, что использование методики ЭКМО приводит

к улучшению результатов лечения.

В 1989 году врачи-энтузиасты объединились и основали общество ELSO (Extracorporeal Life Support Organization). Одной из целей организации являлся сбор данных от всех медицинских центров, применяющих экстракорпоральную мембранную оксигенацию, обмен результатами, информирование об успехах по всему миру, а также обучение новых специалистов. В начале XXI-го века технологии шагнули вперед, и это повлияло на разработку и оптимизацию устройств, используемых в искусственном кровообращении.

На смену пузырьковым оксигенаторам прямого контакта (рисунок 3 а) пришли мембранные оксигенаторы (рисунок 3 б, в). В основу устройства мембранных оксигенаторов положен принцип «мембранного контактора», когда жидкая и газовая фазы разделены сплошной газопроницаемой полимерной мембраной из полого волокна. Мембраны могут быть как пористыми (рисунок 3 б), как правило, на основе полипропилена, так и диффузионными (рисунок 3 в) – на основе полидиметилсилоксана или полиметилпентена. Газ проникает через полимерную мембрану и растворяется в крови, исключая образование пузырьков, как и в легких человека. При этом растворенный в крови углекислый газ проникает через мембрану в полое волокно по градиенту концентрации. Поскольку кровь непосредственно контактирует только с материалом покрытия волокна, важнейшими свойствами материала покрытия является высокая газопроницаемость материала и его гемосовместимость [4].

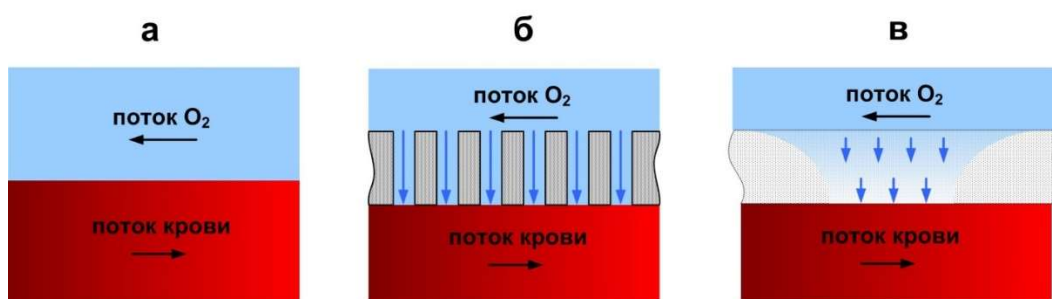


Рисунок 3. Контакт крови с газом в пузырьковом оксигенаторе (а) и мембранных оксигенаторах на основе пористых (б) и диффузионных мембран (в)[4].

Современные оксигенаторы, предназначенные для проведения ЭКМО,

имеют строение капиллярное или полволоконное. В зависимости от расположения крови по отношению к мембране капиллярного волокна выделяют два основных типа мембранных капиллярных оксигенаторов. Кровь, поступившая в оксигенатор, может быть направлена как снаружи (рисунок 4 а), так и проходить внутри капиллярного волокна (рисунок 4 б). В настоящее время большинство производителей выпускают «внешние» капиллярные оксигенаторы (кровь снаружи омывает мембрану). Считается, что при втором варианте процесс газообмена менее эффективен, а риск тромбоза оксигенатора значительно выше [4].

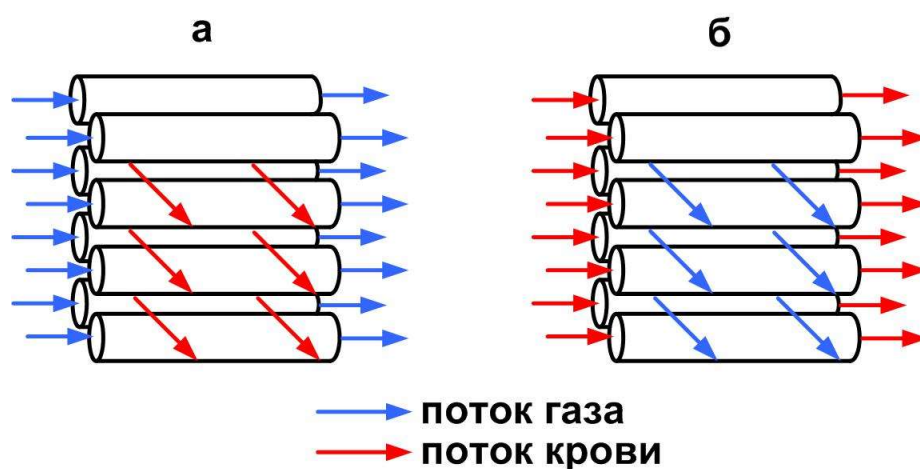


Рисунок 4. Варианты расположения потоков крови и газа в мембранном оксигенаторе [4].

В зависимости от характера пространственного взаимоотношения выделяют капиллярные оксигенаторы с поперечным, параллельным и противоположным направлением потоков газа и крови. Внутреннее строение мембран в оксигенаторе должно обеспечивать равномерное распределения крови вокруг всех капиллярных волокон, и, следовательно, максимальную эффективность газообмена (рисунок 5) [4].

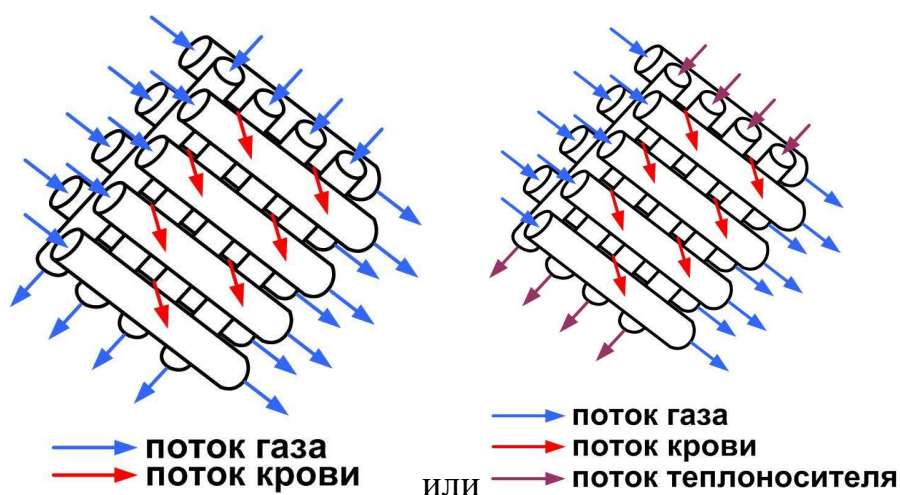


Рисунок 5. Поток крови и газа в оксигенаторе [4].

В современных мембранных оксигенаторах поток газовой смеси (кислородно-воздушная смесь или 100% кислород) проходит внутри, кровь омывает волокно мембраны с внешней стороны. Покрытие синтетического полиметилпептенового волокна гемосовместимым фосфорилхолином способствует улучшению физико-биологических свойств капиллярной мембраны и увеличению продолжительности её функционирования. Так, гарантированная продолжительность работы некоторых оксигенаторов достигает 30 суток [49].

Разработка центрифужных насосов, в сочетании с применением современных мембран улучшили биосовместимость – методика еще не стала «безобидной», но в настоящее время позволяет осуществлять газообмен в тонкой пленке крови с минимальным повреждением форменных элементов крови в течение продолжительного периода проведения процедуры.

Улучшился дизайн аппаратов, они стали компактнее и эргономичнее, появились аппараты с возможностью транспортировки пациентов и применения их в военно-полевых условиях, новые модели аппаратов стали оснащаться датчиками давления, устройствами контроля окклюзии и объемной скорости, детекторами уровня жидкости и пузырьков газа [160].

В 2009 году пандемия нового подтипа вируса гриппа (H1N1), распространившаяся по всему миру, дала мощный толчок к широкому применению

ЭКМО во многих странах. Авторы приводили ошеломляющие результаты успешного опыта применения методики, выживаемость составляла 80-90 % у критических пациентов с острой дыхательной недостаточностью, вызванной вирусом H1N1 [28, 113].

Одновременно с успехами в лечении «свиного гриппа» вышли результаты большого проспективного исследования использования ЭКМО у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом (CESAR), которые были опубликованы в журнале Lancet в 2009 г. Результаты исследования, в которое было включено 180 пациентов, свидетельствовали о лучшей выживаемости в группе проведения ЭКМО 63% против 47% и авторы пришли к выводу, что перевод пациентов с ОРДС в специализированный центр, который обладает возможностью применения ЭКМО, приводит к улучшению результатов лечения [1116].

В России в 2016 г. было организовано общество РОСЭКМО (Российское общество специалистов ЭКМО), целью которого является объединение врачей разных специальностей, имеющих дело с экстракорпоральным кровообращением.

В результате успехов, достигнутых во время пандемии H1N1 и опубликованных результатов проведенных исследований, ЭКМО снова стали рассматривать как жизнеспасающую методику при различных патологиях сердечно-сосудистой и дыхательной системы [18, 20, 111].

В зависимости от условий проведения и технического обеспечения в настоящее время используют следующие конфигурации контура ЭКМО:

– с использованием насоса крови:

ВА ЭКМО – веноартериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация

ВВ ЭКМО – веновенозная экстракорпоральная мембранная оксигенация
ВАВ ЭКМО – веноартериовенозная экстракорпоральная мембранная оксигенация (рисунок 8).

– без насоса крови:

АВ ЭКМО – артериовенозная экстракорпоральная мембранная оксигенация (самопоточная).

Новые технологии позволили вернуть интерес к ЭКМО и извлечь практическую пользу в клиническом применении. В настоящее время, экстракорпоральная мембранная оксигенация развивается быстрыми темпами и вносит большой вклад в лечение пациентов с тяжелой дыхательной и/или сердечной недостаточностью [130, 130].

1.3 Применение экстракорпоральной мембранной оксигенации у пациентов с COVID-19

COVID-19 является новым заболеванием, вызываемым вирусом SARS-CoV-2, появившимся в декабре 2019 года и вызвавшим всемирную пандемию. У части пациентов с COVID-19 (по имеющимся оценкам из Китая и Италии – от 2 до 5%) развивается тяжелая дыхательная недостаточность и острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), требующие интенсивной терапии [35]. Экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) – это высокотехнологичный метод, направленный на поддержание пациентов, находящихся в критическом состоянии с острой дыхательной или сердечной недостаточностью. Известно, что в некоторых случаях, у больных с COVID-19, развивается повреждение значительного объема легочной ткани (более 90%), когда консервативные методы лечения и искусственная вентиляция становятся неэффективными. В этом случае подключение ЭКМО является последним шансом спасти такого пациента, временно заместив функцию пораженных вирусом легких.

При лечении пациентов с тяжелым острым респираторным синдромом (SARS-CoV-2) методика экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) получила еще более широкое распространение. Временные рекомендации Всемирной организации здравоохранения по ведению пациентов с COVID-19 рекомендуют применение веновенозного ЭКМО в экспертных центрах с достаточным опытом проведения подобных клинических процедур, так как на ее эффективность влияет опыт и оснащенность лечебно-профилактического учреждения. Имеется ограниченный ряд данных об использовании ЭКМО во время

предыдущих вспышек инфекционных заболеваний, главным образом в контексте ОРДС, вызванного вирусом гриппа А (H1N1), реальная потребность в ЭКМО во время таких вспышек неясна. Для справки: частота использования ЭКМО у пациентов с ОРДС, связанным с гриппом А (H1N1) 2009 года, в Австралии и Новой Зеландии оценивалась в 2–6 случаев на миллион, тогда как у 5,8 % пациентов в критическом состоянии в Саудовской Аравии ЭКМО применялась для терапии ОРДС, связанного с коронавирусом-ассоциированным ближневосточным респираторным синдромом [43]. Клинические характеристики, продолжительность ЭКМО и смертность сопоставимы между пациентами с COVID-19 и больными гриппом, которым требовалась ЭКМО для лечения рефрактерной гипоксемии [71]. При общей схожести пациентов с тяжелыми формами гриппа и COVID-19 смертность у пациентов с потребностью в искусственной вентиляции легких очень высока. Совокупный показатель смертности составил 43,8%. Средняя продолжительность ЭКМО (14,13 при COVID-19 против 12,55 дней при гриппе; $P < 0,25$) и уровень смертности (42,6% против 45,0%; $P < 0,99$) также сопоставимы между группами [35]. Таким образом, общее влияние вспышки COVID-19 на потенциальное использование ЭКМО в настоящее время неясно, но во всем мире может возникнуть повышенная потребность в ЭКМО.

Пандемия COVID-19 произошла в то время, когда во всем мире инфраструктура ЭКМО значительно более развита и существует гораздо больше ресурсов для медицинского образования и научных исследований, чем десять лет назад. Что еще важнее: в настоящее время имеется больше доказательств эффективности и безопасности ЭКМО у пациентов с ОРДС, чем во время предыдущих вспышек инфекционных заболеваний. Во время пандемии гриппа А (H1N1) в 2009 году несколько станций ЭКМО были включены в реестр активных центров Экстракорпоральной организации поддержки жизни (ELSO), многие из которых были в срочном порядке сформированы именно во время вспышки.

Планирование осуществления ЭКМО во время вспышки инфекционного заболевания, такого как COVID-19, может быть в целом разделено на обеспечение надлежащей организации персонала, оборудования, средств и систем. Как и в

случае любого дефицитного ресурса во времена высокого спроса, может возникнуть несоответствие этих факторов. Во время пандемии гриппа А (H1N1) в 2009 году неадекватный прирост нуждающихся показал необходимость создания резервов для интенсивной терапии и улучшения планирования ресурсов здравоохранения на всех уровнях.

Первоначальный опыт применения ЭКМО в Японии и Южной Корее (более 50 случаев), Европе (более 150 случаев) показывает возможность выживания таких пациентов. В обзоре в *The Lancet Respiratory Medicine* рассматривается роль ЭКМО и центров ЭКМО во время пандемии COVID-19 и рекомендуется использовать ЭКМО при наличии опытных центров, ресурсов и возможностей [128]. В текущих рекомендациях ВОЗ применение веновенозной (ВВ) ЭКМО показано пациентам с COVID-19 и тяжелым ОРДС в опытных центрах с достаточным количеством случаев для клинического опыта. Рекомендации ведущих мировых экспертов описывают общие требования к организации центра ЭКМО для лечения ОРДС [103]. Общие рекомендации по показаниям и ведению пациентов на ЭКМО размещены на сайте международной организации экстракорпоральной поддержки жизни – *ELSO* [51].

Chinese Society of Extracorporeal Life Support также опубликовало рекомендации по ведению пациентов с COVID-19 и рекомендует использовать ЭКМО в случае неэффективности обычного лечения [45, 154].

ЭКМО показана пациентам с высоким риском летального исхода. Существует несколько критериев измерения риска смертности при ОРДС, но большинство включают PaO_2/FiO_2 ниже 100, несмотря на оптимальную терапию. В недавнем многоцентровом проспективном исследовании EOLIA имеются три показания, которые определяют тяжелый ОРДС, когда ЭКМО может быть полезна: индекс оксигенации менее 50 более 3 часов, индекс оксигенации менее 80 более 6 часов и рН артериальной крови менее 7,25 при гиперкапнии выше 60 мм.рт.ст. более 6 часов [16, 40]. Следует использовать стандартизированные алгоритмы для лечения ОРДС [127]. Если пациенты соответствуют показаниям, то ЭКМО следует начинать немедленно на базе подготовленного лечебного учреждения [121].

Решение о применении ЭКМО у пациентов с COVID-19 принимается на местном уровне, исходя из критериев клинической целесообразности и ресурсной обеспеченности учреждения здравоохранения. Это индивидуальное решение для каждого конкретного случая, которое следует принимать на основе общей нагрузки больницы пациентами, укомплектованности персоналом и другими ограниченными ресурсами, наличия технических возможностей, а также рекомендаций органов власти, регулирующих органов или руководства больницы. Если медицинскому учреждению требуется направить все ресурсы на других пациентов, ЭКМО не следует рассматривать до тех пор, пока ресурсы не стабилизируются. Если медицинское учреждение может осуществлять ЭКМО безопасно и без перегрузки персонала, то ее следует предлагать пациентам с хорошим прогнозом при использовании ЭКМО. Использование ЭКМО у пациентов с сочетанием пожилого возраста, множественных сопутствующих заболеваний или полиорганной недостаточности (большинство пациентов с тяжелым ОРДС при COVID-19) имеет плохой прогноз и должно проводиться в исключительных случаях [112].

У пациентов с НКИ COVID-19 рекомендуется проводить интенсивную терапию с применением ЭКМО в медицинских организациях, где уже есть центр ЭКМО и опыт проведения ЭКМО.

У пациентов с НКИ COVID-19 применение ЭКМО не рекомендуется:

- при ограниченных ресурсах лечебного учреждения;
- у пациентов с множественными сопутствующими заболеваниями или полиорганной недостаточностью;
- при наличии значительных сопутствующих заболеваний.

1.4 Показания и противопоказания к ЭКМО

Показания к проведению экстракорпоральной мембранной оксигенации:

1) По PaO_2/FiO_2 при оптимизации респираторной терапии:

- $PaO_2/FiO_2 < 80$ мм рт. ст. с $FiO_2 \geq 80$ % более 6 ч;

– $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 50$ мм рт. ст. с $\text{FiO}_2 \geq 80\%$ более 3 ч.

2) Респираторный ацидоз $\text{pH} < 7,25$ с $\text{PaCO}_2 \geq 60$ мм рт. ст. более 6 ч и P плато ≤ 32 см H_2O .

3) Шкала Мюррея ≥ 3 баллов.

В условиях пандемии при ограниченных ресурсах лечебного учреждения рекомендуется руководствоваться абсолютными и относительными противопоказаниями к проведению ЭКМО.

Абсолютные противопоказания для ЭКМО:

а) категория 3 и выше по клинической шкале старческой астении (Clinical Frailty Scale);

б) значимая сопутствующая патология:

- ХБП \geq III;
- цирроз печени;
- деменция;
- исходное неврологическое заболевание, которое исключает реабилитационный потенциал;
- распространенное злокачественное новообразование;
- прогрессирующее заболевание легких;
- некорригированный сахарный диабет с хронической дисфункцией органов-мишеней;
- тяжелое ухудшение физического состояния;
- белково-энергетическая недостаточность;
- тяжелое заболевание периферических сосудов;
- другие предшествующие медицинские состояния, ограничивающие жизнедеятельность;

в) тяжелая полиорганная недостаточность;

г) тяжелое острое повреждение ЦНС, в том числе гипоксическое и ОНМК;

д) неконтролируемое кровотечение;

е) противопоказания к антикоагулянтной терапии гепаринами;

ж) невозможность переливания компонентов крови;

з) проведение реанимационных мероприятий [51, 68].

Относительные противопоказания для ЭКМО:

- а) ИВЛ с жесткими параметрами ($FiO_2 > 0,9$, Р плато > 30 см H₂O) > 7 дней;
- б) возраст ≥ 65 лет;
- в) выраженная фармакологическая иммуносупрессия (абсолютное количество нейтрофилов $< 400/мм^3$);
- г) ожирение ИМТ > 40 ;
- д) прогрессирование хронической систолической сердечной недостаточности;
- е) необходимость использования высоких доз вазопрессоров (если не показана веноартериальная или веновенозная ЭКМО);
- ж) врожденные или приобретенные геморрагические заболевания или состояния [51, 68].

1.5 Нарушения гемостаза при COVID-19: патогенез и риск тромботических осложнений

Вирус SARS-CoV-2 связывается с рецептором ангиотензин-превращающего фермента (АПФ2), который находится на поверхности клеток эпителия легких, энтероцитов тонкой кишки, клетках эндотелия артерий и вен, артериальных гладкомышечных клеток. Репликация вируса оказывает непосредственное цитотоксическое действие, приводит к выделению клеткой провоспалительных агентов, а также способствует развитию каскада взаимосвязанных реакций в системах гемостаза, комплемента и др. [132]. Вирус запускает иммунные реакции, активизирует альвеолярные макрофаги, каскад системы комплемента [105]. В исследовании, проведенном Magro С., было показано, что у пациентов с COVID-19 и тяжелой дыхательной недостаточностью в коже и ткани легких присутствуют микрососудистые повреждения и тромбозы на фоне активации альтернативного (AP) и лектинового (LP) путей комплемента. Было продемонстрировано, что у некоторых тяжелых пациентов с COVID-19 имела место значительная и длительная

активация AP и LP. Сформированные иммунные комплексы сами по себе далее активируют системы комплемента и способствуют нарастанию воспалительной реакции [101]. Активация комплемента, повреждение эндотелия, привлечение лейкоцитов влекут массивный выброс цитокинов, таких как интерлейкин (IL) 1, IL-6, фактор эндотелиальной адгезии, фактор некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующий фактор гранулоцитов, интерферон, моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, макрофагальный воспалительный белок 1 α , приводя к развитию цитокинового «шторма». За повреждением и активацией эндотелия, активацией комплемента, тромбоцитов и развитием цитокинового «шторма» при COVID-19 следует привлечение в очаг нейтрофилов с массивным выбросом нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular neutrophil traps, NETs) и неуправляемым развитием патологических процессов тромбовоспаления [41]. Нейтрофильные внеклеточные ловушки – это экструзии внутриклеточной ДНК и гранул, содержащих гистоны, которые нейтрофилы организуют в цитоплазме, а затем выбрасывают при активации (нетоз) [76]. Ранее считалось, что формирование NETs является терминальным событием для нейтрофилов, однако в настоящее время установлено, что некоторые нейтрофилы переживают этот процесс, становясь неядерными, и могут вызывать продолжающееся повреждение тканей [141]. Было показано, что NETs непосредственно цитотоксичны для эпителия и эндотелия легкого [134]. NETs разрушают альвеолярно-капиллярный барьер и нарушают целостность сосуда. Несмотря на известные защитные свойства NETs в отношении захвата и инактивации вирусов и бактерий, в случаях с вирусными пневмониями эти эффекты отсутствуют. Внеклеточные ловушки становятся каркасом для построения тромбов и адгезии тромбоцитов [79]. NETs способствуют расщеплению ингибитора тканевого фактора и стимуляции Ха-фактора. Вырабатываемые в огромном количестве в условиях новой вирусной инфекции NETs способствуют развитию альвеолита, повреждению эндотелия, активации тромбоцитов и проявлению множества других процессов, которые в итоге запускают внутрисосудистое свертывание. Известно, что формирование NETs способствует развитию аутоиммунных реакций. Повышенная частота

развития тромботических осложнений у пациентов с системными воспалительными заболеваниями, такими как антифосфолипидный синдром, гепарининдуцированная тромбоцитопения, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП), особенно в периоды обострения может быть объяснена в том числе и NET-зависимой активацией системы свертывания [88]. Активное участие в этом принимают гистоны и другие производные нейтрофилов и NET, такие как фосфатидилсерин-положительные микрочастицы (microparticles, MPs) или аутоантигены. Белок 1 высокоподвижной группы HMGB1 (high-mobility group protein B1, HMGB1) на тромбоцитарных MPs является основным активатором аутофаг-опосредованного выделения NET у пациентов с системной склеродермией, что означает вовлеченность нейтрофильных аутофагов и NET в процессы повреждения сосудистой стенки и микротромбозы [67]. Дальнейшее изучение NETs в патогенезе инфекционного процесса очень важно в отношении разработки эффективных способов терапии. Активация клеток эндотелия сопровождается экспрессией тканевого фактора, запускающего активацию коагуляционного каскада. Также в ответ на вирусную инфекцию активируются тромбоциты, которые впоследствии запускают цепь реакций, включая привлечение нейтрофилов и выработку ими NETs. Тромбоциты – неотъемлемые участники процесса воспаления, так как благодаря рецепторам на своей поверхности они контактируют непосредственно с патогенным агентом, а также с иммуноглобулинами и комплементом. Активация системы свертывания крови является основным событием, которое приводит к коагулопатии потребления и внутрисосудистому свертыванию в микроциркуляторном русле. Развивается синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС). Массивные отложения фибрина в ответ на внедрение инфекции выступают результатом не только внутрисосудистого свертывания крови, но также и подавления фибринолиза как из-за потребления естественных антикоагулянтов, так и из-за наличия предрасполагающих скрытых или явных дефектов системы гемостаза, сопутствующих заболеваний, состояния иммунной системы и системы комплемента. Блокада микроциркуляции способствует нарушению перфузии

органов и формированию полиорганной недостаточности при прогрессировании нарушений в системе гемостаза. Синдром ДВС – неотъемлемая часть патогенеза шоковых состояний, в первую очередь септического шока [92]. Одним из маркеров нарастания тяжести течения COVID-19 является ферритин. Функция ферритина заключается в связывании и переносе ионов железа, а также участии в иммунных и воспалительных реакциях [83]. Исследования показали, что воспалительный ответ на вирусную инфекцию (IL-18/ферритин) выступает специфическим плазменным иммунным биомаркером. При массивном повреждении тканей на фоне вирусной инфекции в кровь попадает большое количество негликозилированного ферритина. Гиперферритинемия приводит к активации макрофагов с последующим выделением ими цитокинов и усилению цитокинового «шторма» [141]. В недавнем мультицентровом ретроспективном исследовании, в котором приняли участие 150 пациентов с подтвержденной инфекцией COVID-19, были выявлены предикторы тяжелого течения, такие как ферритин (средний показатель – 1297,6 нг/мл, при тяжелом течении – 614,0 мг/мл, $p < 0,001$) и интерлейкин 6 ($p < 0,001$) [134]. Процесс активации эндотелия, развивающийся при большом количестве патологических состояний, сопровождается выбросом большого количества мультимеров фактора Виллебранда (ФВ), которые обладают огромным потенциалом связывания с тромбоцитами. Они высокотромбогенны и потому подвергаются ферментному разрушению на более мелкие фрагменты, обладающие меньшей активностью до попадания в кровоток. Резка мультимеров происходит при участии фермента металлопротеиназы ADAMTS-13 (a Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin Type 1 Motif 13) после связывания в области A2 домена ФВ. Этот процесс активируют тромбоциты и фактор свертывания VIII. ADAMTS-13 представляет собой протеазу из семейства металлопротеиназ. Избыток мультимеров ФВ не только характерен для первичных тромботических микроангиопатий (ТМА), но также является важным прогностическим маркером тяжелого воспаления [31]. Снижение активности ADAMTS-13 отмечается при коагулопатии в составе ДВС-синдрома, сепсиса, тромботической микроангиопатии и полиорганной недостаточности у

реанимационных пациентов, являясь системным, универсальным механизмом [74]. Снижение активности ADAMTS-13 может быть вызвано различными механизмами. Более низкая активность ADAMTS-13 выявляется у лиц старше 65 лет и новорожденных в возрасте до 6 мес. Дефицит ADAMTS-13 описан при беременности, онкологических заболеваниях, сепсисе, в послеоперационном периоде, при аутоиммунных заболеваниях, гепарин-индуцированной тромбоцитопении, ТТП, циррозе печени, а также на фоне применения тиклопидина, клопидогрела, хинина и при ряде других состояний, связанных с полиорганными поражениями и острофазовыми реакциями [74]. Согласно данным исследований, более трети пациентов с сепсисом имеют концентрацию ADAMTS-13 менее 50% от нормального значения, а около 15% пациентов – менее 10% от нормы. Чем ниже концентрация ADAMTS-13, тем выше риск летального исхода у пациентов с сепсисом и септическим шоком [181]. Источником ADAMTS-13 является свежемороженая плазма. У пациентов с тяжелым сепсисом, гемолитической анемией и признаками тромботической микроангиопатии свежемороженая плазма может восполнить дефицит этого фермента и наряду с антикоагулянтной терапией улучшить состояние микроциркуляции [27]. Более того, изучается роль рекомбинантной ADAMTS-13 в лечении состояний, связанных с дефицитом ADAMTS-13. В настоящее время, к сожалению, не накоплено достаточного количества данных о ADAMTS-13 у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [91]. В исследовании, проведенном Escher и соавт. на небольшом количестве тяжелых пациентов с COVID-19, было показано, что у пациентов с септическим шоком изменения со стороны ADAMTS-13 неоднозначны [52]. Однако, учитывая общие механизмы развития септического шока и ДВС-синдрома как исхода многих патологических процессов, исследования в области выявления тромботической микроангиопатии и дефицита ADAMTS-13 следует продолжить в ретроспективных исследованиях на имеющемся большом материале [102]. Циркуляция антифосфолипидных антител (АФА) характерна для приобретенной тромбофилии – антифосфолипидного синдрома (АФС). Как показали исследования Zhang и соавт. появление антител способствует развитию

тромботических осложнений у пациентов с COVID-19 [172]. Harzallah и соавт. сообщают о результатах тестирования на антифосфолипидные антитела у 56 пациентов с подтвержденной инфекцией COVID-19 [60]. У 25 пациентов был выявлен волчаночный антикоагулянт, у 5 – антикардиолипиновые или антибетта-2-гликопротеин 1 антитела IgG и IgM. Появление антифосфолипидных антител на фоне острого воспаления является известным патологическим процессом. В исследовании Yu Zuo и соавт. определялось восемь типов антифосфолипидных антител (антикардиолипиновые IgG/IgA/IgM, антибетта-2-гликопротеин 1 IgG/IgM/IgA и антифосфатидилсерин/ протромбин IgG/IgM) в плазме крови 172 пациентов, госпитализированных с инфекцией COVID-19 [185]. Антикардиолипиновые антитела класса IgM были выявлены в 23%, антифосфатидилсерин/протромбин IgG – в 24%, IgM – в 18%. В целом среди пациентов антифосфолипидные антитела определялись в 52%. Высокие их титры были связаны с гиперактивностью нейтрофилов (в том числе и со степенью выделения NETs), повышением количества тромбоцитов, более тяжелыми респираторными нарушениям и низкими уровнями гломерулярной фильтрации. Влияние АФА распространяется на все звенья системы гемостаза, включая функцию естественных антикоагулянтов, регуляцию фибринолиза, первичный и вторичный гемостаз, защитные свойства эндотелия. Помимо влияния на гемостаз, АФА обладают также и нетромбогенными эффектами, такими как: индукция апоптоза, нарушение баланса Т-хелперов Th1/Th2, активация и отложение комплексов комплемента, активация нейтрофилов, моноцитов, гиперпродукция ФНО- α , хемокинов и т.д. [33]. Катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС) является наиболее тяжелой формой АФС, при которой происходит массивное образование АФА с последующим развитием тромботического «шторма». Летальность при КАФС достигает 50%. В настоящее время КАФС рассматривается с позиции синдрома системного воспалительного ответа и характеризуется развитием системной эндотелиальной дисфункции, системным выбросом провоспалительных цитокинов, активацией системы гемостаза (активацией образования тромбина), угнетением фибринолиза за счет ингибитора

активатора плазминогена I типа (Plasminogen Activator Inhibitor I, PAI-1) и подавления ингибитора внешнего пути свертывания крови (Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI), потребления антикоагулянтных факторов (протеинов C, S и антитромбина (АТ)) и развитием ДВС-синдрома. При катастрофическом антифосфолипидном и ДВС-синдроме происходит универсальный патологический процесс – синдром системного воспалительного ответа [152]. Возвращаясь ко вкладу ADAMTS-13 в развитие тромботических осложнений при COVID-19, отметим, что АФА могут приводить к функциональному дефициту фермента, являясь нейтрализующими антителами. Приобретенный дефицит ADAMTS-13 на фоне массивной циркуляции АФА приводит к развитию угрожающих жизни тромбозов и полиорганной недостаточности [60]. В исследовании, посвященном выявлению лабораторных маркеров прогрессирования COVID-19, было показано, что у пациентов с прогрессированием заболевания в крови нарастает концентрация гомоцистеина. Давно доказана роль гипергомоцистеинемии в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, хронических заболеваний почек и печени, осложнений беременности. Также ранее было показано, что у пациентов с вирусной инфекцией (вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусные гепатиты, вирус папилломы человека (ВПЧ)) концентрация гомоцистеина в крови значительно выше [17]. Гомоцистеин – токсичная для организма аминокислота, способствующая развитию оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции и атеросклероза. Гипергомоцистеинемия может быть генетической и приобретенной. В отличие от других форм генетической тромбофилии, при гипергомоцистеинемии нет исходных нарушений в системе гемостаза, они развиваются при сбое в работе ферментных систем, накоплении гомоцистеина в плазме крови, развитии окислительного стресса и т.д.

Гипергомоцистеинемия является независимым фактором риска развития рецидивирующего венозного тромбоза (независимо от возраста, пола, наличия мутации фактора V Leiden, протромбина G 20210A и др.). К механизмам патогенеза гипергомоцистеинемии относятся непосредственное повреждение эндотелиальных клеток, нарушение роста эндотелия (в связи со сбоем процессов

метиляции), пролиферация гладкомышечных клеток, накопление коллагена, усиление связывания липопротеина с фибрином, активация окисления липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), активация тромбоксан-опосредованной агрегации тромбоцитов, увеличение прокоагулянтной активности клеточного тканевого фактора, нарушение экспрессии тромбомодулина на поверхности клетки и активации протеина С, снижение антитромбин-связывающей активности, усиление активности V фактора, снижение количества участков связывания с ингибитором тканевого плазминогена, усиление экспрессии гена и секреции PAI-I и т.д. Повышенная концентрация гомоцистеина приводит к снижению активности эндотелиального оксида азота NO, выделению цитокинов и хемокинов (в том числе моноцитарного хемотаксического протеина-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1, MCP-1) и IL-8), повышению экспрессии молекул адгезии (в том числе и молекулы адгезии сосудистых клеток 1, васкулярных молекул клеточной адгезии (Vascular Cell Adhesion Molecule 1, VCAM-1)), протромботическим изменениям в системе свертывания (тромбомодулин, протеин С, PAI-I, тканевой активатор плазминогена). Нарушение функции эндотелия сочетается с повышенной агрегацией тромбоцитов, адгезией лейкоцитов, что в итоге может приводить к тромбозу. Особая роль в патогенезе тромботических осложнений на фоне вирусной инфекции отведена системе протеина С и тромбомодулину. Тромбомодулин способен снижать адгезию лейкоцитов к активированному эндотелию, препятствовать комплемент-опосредованному повреждению эндотелия через активацию активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor, TAFI), который способен ингибировать C5a-компонент комплемента, являясь рецептором тромбина, связывать тромбин и предотвращать формирование фибрина, активацию тромбоцитов и рецепторов, активируемых протеазами (protease-activated receptors, PARs), необходим для активации протеина С, в активной форме обладающего антикоагулянтным и противовоспалительным эффектами. Активированный протеин С способен подавлять образование тромбина и конкурировать с ним, подавлять продукцию моноцитами провоспалительных цитокинов ФНО- α , IL-1 β , IL-6, снижать

опосредованную E-селектином адгезию лейкоцитов к активированному эндотелию [180]. Все перечисленное позволяет считать перспективным применение препаратов тромбомодулина и активированного протеина С у пациентов в критических состояниях с сепсисом, септическим шоком и ДВС. Один из важнейших естественных антикоагулянтов – ингибитор внешнего пути свертывания крови ИПТФ (ингибитор пути тканевого фактора) – также проявляет противовоспалительные эффекты, прежде всего за счет торможения образования избыточных количеств тромбина с его провоспалительными свойствами через подавление сборки комплекса TF-FVIIa. Развивающийся на фоне всех описанных процессов атипичный респираторный дистресс-синдром проявляется прогрессирующей гиповентиляцией, нарушением перфузии, утратой гипоксического вазоконстрикторного рефлекса, а также микрососудистым легочным тромбозом с повышением в крови концентрации лактатдегидрогеназы и D-димера [152]. При прогрессировании процесс повреждения эндотелия и микротромбообразование приводят к полиорганной недостаточности. В связи с этим итальянскими учеными предложен термин «MicroCLOTS» (Microvascular COVID-19 Lung vessels Obstructive Thromboinflammatory Syndrome) в качестве названия атипичного дистресс-синдрома при COVID-19 [36].

Новая коронавирусная инфекция повышает риск развития ряда внелегочных осложнений, таких как острое повреждение миокарда, почечная недостаточность и тромбоэмболические осложнения [78]. Возможным объединяющим объяснением этих явлений может быть наличие глубокой эндотелиальной дисфункции [139, 158]. Эндотелиальная дисфункция является общим признаком основных сопутствующих заболеваний, повышающих риск тяжелого COVID-19, таких как гипертоническая болезнь, ожирение, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца или сердечная недостаточность [77, 169].

Исследования показывают, что вирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) может проникать и повреждать эндотелиальные клетки сосудов, при этом в случаях тяжелого течения COVID-19, выявляется обширное эндотелиальное повреждение. Предыдущие исследования установили решающую

роль эндотелиальных клеток в поддержании и регуляции сосудистой гомеостаза и свертывания крови. Усугубление эндотелиальной дисфункции при COVID-19 может нарушать перфузию органов и вызывать прокоагуляционное состояние, приводящее к макро- и микроваскулярным тромботическим явлениям [139].

Известно, что ингибиторы, блокаторы рецепторов ангиотензина (БРА) и статины улучшают эндотелиальную дисфункцию. Данные небольших экспериментальных исследований при других вирусных инфекциях предполагают возможный положительный эффект при COVID-19. Направленность терапии на предотвращении и улучшение эндотелиальной функции может улучшить исходы при COVID-19. В настоящее время проводится несколько клинических испытаний для изучения этой возможности. Многочисленные исследования показали, что предиктором тяжелого течения заболевания является резкое повышение концентрации D-димера в крови и некоторых других маркеров активации гемостаза. Исходя из патогенеза, разработанные схемы профилактики и лечения тяжелых осложнений COVID-19 включают низкомолекулярные гепарины, которые также рекомендуют для применения в амбулаторных условиях. Назначение низкомолекулярных гепаринов, длительность их применения и дозы должны определяться на основе оценки факторов риска для каждого отдельного пациента в сочетании с лабораторным мониторингом [157].

1.6 Применение ЭКМО у пациентов с COVID-19 и COVID-ассоциированные коагулопатии

SARS-COV-2 является высоковирулентным вирусом, который может вызывать тяжелую гипоксическую дыхательную недостаточность, миокардиальную и неврологическую дисфункцию, а также мультисистемные воспалительные заболевания и тяжелую коагулопатию, которая похожа на диффузное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром) [151, 153].

С 16 января по 1 мая 2020 года в журнале Lancet были опубликованы сведения о 1035 пациентах с COVID-19, получивших экстракорпоральную

мембранную оксигенацию (ЭКМО); 380 из 968 пациентов умерли. V-V ЭКМО была основным методом поддержки при дыхательной недостаточности, но V-A и V-VA также использовались для лечения сердечной недостаточности и остановки сердца, связанных с COVID [17].

Патофизиология COVID-19 остается не до конца изученной. Исследования аутопсийного материала показали целый ряд патологий легких, включая обычные проявления острого респираторного дистресс-синдрома с диффузным повреждением альвеол с гиалиновыми мембранами, гиперплазией пневмоцитов 2 типа и пролиферацией фибробластов. Повреждение эндотелия и как микро-, так и макротромбы были обнаружены в кровеносных сосудах с высокой частотой [29]. Точный механизм формирования коагулопатии на сегодняшний день до конца не выяснен. Возможные причины включают сепсис, вызванный ДВС-синдром, опосредованное воспалением прокоагулянтное состояние и эндотелиальное воспаление или дисфункция, связанные с прямым вирусным повреждением. Аномальные параметры свертывания крови, особенно повышенные уровни d-димера и продуктов распада фибрина (FDP), были связаны с высокими показателями смертности [152].

У пациентов с COVID-19 на ЭКМО была отмечена высокая частота клинически значимых тромбозов и кровотечений. Хотя частота серьезных кровотечений аналогична таковой в предыдущих опубликованных исследованиях, частота тромбозов намного выше нормы и составила 19% по сравнению с 0% в исследовании EOLIA по поводу дыхательной недостаточности [136].

Gaisendrees C. и соавторы опубликовали данные о сложностях у пациента с положительным COVID, у которого развилась тромбоэмболия легочной артерии, несмотря на профилактическое введение низкомолекулярного гепарина [59].

По данным Nixon с соавторами, рассмотренные варианты перфузии включают компоненты схемы ЭКМО, стратегии канюляции, типы и уровень введения антикоагулянтов, мониторинг параметров свертывания, а также мониторинг и лечение воспалительного состояния, которое может возникнуть при COVID. Конфигурация контура должна рассчитываться с учетом минимизации

протяженности участков низкого потока и застоя. Поток крови через оксигенатор должен поддерживаться > 2 л/мин, чтобы свести к минимуму тромбообразование. Предпочтительным является поддержание хорошего сердечного выброса и минимальная венозная обструкция канюлями. При проведении ВА-ЭКМО следует поддерживать достаточный сердечный выброс для предотвращения застоя в камерах сердца и малом круге кровообращения [112].

Антиагрегантная терапия также необходима при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19, она может включать тирофибан, аспирин или оксид азота [85]. В ряде исследований, посвященных ЭКМО демонстрируются преимущества использования прямых ингибиторов тромбина (например, бивалирудина), по сравнению с нефракционированным гепарином, включая уменьшение выраженности системного воспаления [80, 110].

Было показано, что дексаметазон снижает смертность у пациентов, которым требуется кислородная поддержка, однако неясно, можно ли объяснить этот эффект контролем процесса коагулопатии. Другие модуляторы воспаления, такие как Тоцилизумаб (антитело к рецептору IL-6) или Анакинра (IL-1 антагонист рецептора) требуют дальнейшего изучения и в настоящее время не рекомендуются в качестве обычной терапии [166].

Ясно, что стандартные протоколы антикоагуляции могут не подходить для некоторых пациентов с COVID, у которых проявляются признаки воспаления или ДВС-синдрома; параметрами гемостаза этих пациентов трудно управлять и в настоящее время не существует четких стандартных рекомендаций.

Пациентам с повышенными факторами риска внутрисосудистого тромбоза или эмболии легочной артерии рекомендуется повышенная дозировка антитромбоцитарных, противовоспалительных и антикоагулянтных препаратов [64, 89, 161].

1.7 Ведение пациентов с COVID-19 на ЭКМО

Для пациентов без кровотечения или высокого риска кровотечения доза

гепарина перед канюляцией составляет 50 Ед/кг, для пациентов с кровотечением или высоким риском кровотечения (тромбоцитопения $<50 \times 10^9$) дозу гепарина перед канюляцией следует уменьшить до 25 Ед/кг. После начала ВВ ЭКМО должна быть начата инфузия гепарина для поддержания уровня времени активированного свертывания (ВАС) 160-180 сек или активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) в 1,5 раза выше нормы (40-60 сек). Пациентов с активным кровотечением или тромбоцитопенией $<10 \times 10^9$ рекомендуется вести без инфузии гепарина при поддержании скорости кровотока через контур ЭКМО не менее 3 л/мин [2, 11, 12, 51].

После начала ЭКМО ИВЛ рекомендуется проводить в режиме «отдыха» легких: пиковое давление на вдохе не выше 20 см H_2O , дыхательный объем 3-6 мл/кг, частота дыхания 10-15 в мин. Параметры объемной скорости кровотока и потока кислородо-воздушной смеси через контур ЭКМО рекомендуется подбирать для поддержания артериальной сатурации на уровне $> 90\%$, $pH > 7,3$, $PaCO_2$ 40-45 мм рт.ст. (допустима гиперкапния до 60 мм рт.ст. у пациентов с ХОБЛ) [15, 51].

На сегодняшний день требуется больше информации об эффективном лечении пациентов с COVID-19 с использованием ЭКМО. Поэтому полученные данные о применении ЭКМО при тяжелом течении COVID-19 продолжают анализироваться. Немаловажный вклад в сбор и систематизацию информации внесли российский и международный регистры – РосЭКМО и ELSO соответственно. В настоящее время тактика ведения пациентов этой категории продолжает обсуждаться в кругах научных медицинских сообществ.

1.8 Роль антитромбина-III во время экстракорпоральной мембранной оксигенации при лечении COVID-19

Мониторинг адекватности гепаринизации является ключевым элементом для сохранения шаткого баланса между кровотечением и тромбозом. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) отражает состояние внутреннего пути свертывания и берется в расчет чаще всего. Также подлежат измерению такие

параметры, как активированное время свертывания и активность антитромбина-III (АТ-III) [115]. В случае необходимости использования более 35 000 МЕ нефракционированного гепарина в течение 24 часов для достижения целевого уровня АЧТВ можно предположить развитие гепарин-резистентности, обусловленной дефицитом АТ-III [93]. АТ-III-независимые формы гепарин-резистентности (так называемые «очевидные» или «псевдо»-формы) могут быть вызваны также высокими концентрациями VIII фактора свертывания, фибриногена или тромбоцитов [48]. Контроль активности антитромбина-III во время продолжающейся инфузии гепарина при ЭКМО до сих пор остается предметом дебатов. Оптимальная концентрация циркулирующего антитромбина-III остается неизвестной. Несмотря на это, использование концентрата антитромбина во время ЭКМО становится все более частым явлением [75, 94].

Применение антитромбина-III позволяет обеспечить оптимальные условия для длительной работы системы экстракорпоральной мембранной оксигенации [6, 13].

1.9 Повреждение эндотелия и окислительный стресс при COVID-19 в условиях ЭКМО

Частота тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19 сохраняется повышенной, несмотря на меры тромбопрофилактики [150]. У самых тяжелых пациентов, нуждающихся в ЭКМО, известно немного о риске нарушений гемостаза, также как и о закономерных последствиях в виде тромбозов и кровотечений. Поэтому все еще достаточно сложно определить оптимальную тактику антикоагулянтной терапии для этой группы пациентов.

Известно, что COVID-19 вызывает нарушения функции эндотелия, приводя как к тромбозам, так и повышая риск кровотечений в определенных ситуациях. Патогенез предполагает связывание поверхностного гликопротеина вируса, известного как шип(спайк) к АПФ2 [150]. Последующее попадание вируса может приводить к цитопатологическим изменениям в эпителиально-альвеолярных

поверхностях, включая нарушение внутриклеточных соединений, клеточный отек и разобщение с базальной мембраной [77, 96]. Экспозиция к потенциальным активаторам каскада свертывания приводит к активации тромбина и продукции фибрина. Катализирование диссеминированного процесса тромбообразования это связанная с рецепторами тромбина активация тромбоцитов и дегрануляция плотных гранул, содержащих полифосфаты. Возможно, именно эта связь коагуляционного каскада и иммунной системы обостряет гипериммунный статус при COVID-19. В нормальных физиологических условиях эндотелий использует механизмы противодействия тромбообразованию как то выработку простациклина и активатора тканевого плазминогена. В противном случае, патофизиологические процессы нарушают этот хрупкий баланс через секрецию ингибитора активатора плазминогена-1 эндотелиальными клетками, приводя к эффекту анти-фибринолиза [10]. Таким образом, антикоагулянтные стратегии при COVID-19 часто строятся вокруг профилактики развертывания этих взаимосвязанных каскадов.

У критических пациентов, нуждающихся в экстракорпоральной поддержке, в дополнение к высоким рискам кровотечений наблюдается высокая частота тромбозов. Эти находки приводят к сложным клиническим дилеммам, наблюдающимся у этой уязвимой группы пациентов, и подчеркивают отсутствие сведений о взаимодействии гиперкоагуляции при COVID-19 и ЭКМО. Как отметил Panigada с соавт., вискоэластические методы диагностики показали свою значимость в обнаружении коагуляционных аномалий, включая фибринолиз у пациентов на ЭКМО [114]. Аномальные значения показателей гемостаза наблюдаются достаточно часто. Недавнее ретроспективное исследование Yuriditski с соавт. обнаружило индекс свертывания в границах гиперкоагуляции у 50% пациентов и у 31% встретились с тромбоэмболическими осложнениями [114]. Незначительные изменения лабораторных показателей могут предшествовать критическим клиническим ситуациям, включая внутричерепные кровоизлияния и вискоэластическое подтверждение гиперфибринолиза может наблюдаться даже у пациентов с нормальными значениями фибриногена [176].

Выбор средства обеспечения системной антикоагуляции в эру COVID-19

является одним из ключевых звеньев терапии. Автокатализ тромбина сгустка продлевает отложение тромбина через усиление прямых путей свертывания, тем самым поддерживая рост тромботической массы. Прямые ингибиторы тромбина, такие как бивалирудин, снижают активность тромбина в сосудистом русле и местах тромбообразования [110]. ОРДС в том числе и при COVID-19 может приводить к избыточной продукции тромбина [75], тем самым влияя на взаимодействие между иммунными и тромботическими каскадами. Критическая ситуация может быть разрешена титрованием дозы ингибитора тромбина, приводя к улучшению клинического состояния, но требует дальнейшего исследования [94].

COVID-19 приводит к значимой дисфункции эндотелия, вызывая протромботическое и антифибринолитическое состояние, последнее по причине повышенной секреции ингибитора активатора плазминогена-1 [139]. Антикоагулянтная терапия имеет терапевтическую значимость при COVID-19 как таковая, однако ЭКМО усложняет картину гемостаза и может склонить баланс весов в сторону гиперфибринолиза при определенных обстоятельствах. Так, у пациентов с COVID-19 описывается повышение уровня D-димера, как наиболее репрезентативного продукта деградации фибрина, который образуется при ферментативном расщеплении фибрина плазмином [96]. D-димер служит у пациентов с COVID-19 маркером, повышение уровня которого связывают с увеличением тяжести заболевания и риска госпитальной смертности [139, 175].

Для тяжелых и критически тяжелых пациентов с COVID-19 аппаратная респираторная поддержка служит ключевым элементом в вопросе снижения смертности [38]. В частности, в случаях тяжелого ОРДС рефрактерная гипоксемия и гиперкапния могут прогрессивно нарастать, несмотря на протективные режимы вентиляции или вентиляцию в прон-позиции. ВОЗ предложила в таком случае использовать ЭКМО для вспомогательной вентиляции и гемодинамической поддержки [38, 140]. Согласно данным, представленным на 3-ем ежегодном собрании Китайского Общества Экстракорпоральной Поддержки (CSECLS2019), за 2018 год было зарегистрировано 13 394 случая применения ЭКМО в 435 ЭКМО-центрах по всему миру [154]. Европейская Организация Экстракорпоральной

Поддержки (ELSO) сообщила о выживаемости при ВВ ЭКМО и ВА ЭКМО в 2018 г. 58,7-73,2% и 42,7-52,6% соответственно [53]. Даже с учетом технического прогресса, частота осложнений и смертность все еще остаются высокими при использовании ЭКМО [97]. ЭКМО – это чрезвычайно сложная и тонкая форма экстракорпоральной поддержки, осуществление которой возможно только в специализированных центрах, обладающим достаточным опытом. Кроме того, ЭКМО является очень дорогостоящей процедурой, что в значительной мере замедляет ее развитие и распространение [40].

Все большее число лечебных учреждений оснащается для обеспечения возможности проведения ЭКМО в разгар пандемии COVID-19 и активно сообщает о случаях использования методики при SARS-CoV-2 ОРДС. Большинству пациентов при этом ЭКМО проводится в веновенозной конфигурации, которая является предпочтительной для пациентов с COVID-19 [17, 127]. Принимая умеренную трансфузионную тактику с целевыми значениями гемоглобина 7-10 г/дл [97, 126]. При пандемии SARS-CoV-2 самой частой причиной подключения ЭКМО является изолированная гипоксемическая дыхательная недостаточность и/или гиперкапния [17].

Важность адекватного газообмена во время В-В ЭКМО и синергичности между легким и оксигенатором неоспорима, однако оптимальной стратегии отлучения от ЭКМО все еще не существует. Трахеостомия часто используется для того, чтобы обеспечить возможность проведения ЭКМО пациенту в сознании и его активизации как этапа отлучения [148]. Трахеостомия может так же являться мостом к самостоятельному дыханию при ЭКМО в сознании у пациентов с COVID-19. Отлучение от механической вентиляции легких требует прекращения седации [149, 159].

Необходимо принять во внимание результаты среднесрочной выживаемости пациентов с ЭКМО при COVID-19. При анализе имеющихся данных было обнаружено, что 6-месячная смертность составила 33,3-65,9% и наиболее частыми осложнениями во время и после ЭКМО оказались острая почечная недостаточность, септицемия, инсульт, тромбоэмболия легочных артерий и

тромбоз глубоких вен [24]. В тоже время, не стоит забывать, что разнообразные осложнения при COVID-19 часто носят отсроченный характер, часто проявляясь спустя месяцы от начала заболевания. Все возрастные группы подвержены пост-COVID синдрому с широким разнообразием симптомов, наиболее часто наблюдаемым из которых является усталость [120]. Физические и когнитивные нарушения требуют планирования программы реабилитации у данной группы пациентов [8].

В свою очередь, как тромбозы, так и когнитивные нарушения в отдаленном периоде развиваются в том числе вследствие повреждения эндотелия. Дисфункция эндотелия сопровождается нарушением равновесия гемостаза со сдвигом его в прокоагулянтную сторону, уменьшением высвобождения сосудорасширяющих и увеличением выделения сосудосуживающих факторов, и склонностью к спастическим реакциям в микроциркуляторном русле, повышенной миграцией лейкоцитов через эндотелий с развитием локального воспалительного процесса [42, 60, 106].

При COVID-19 повреждение эндотелия и нарушение его функции чаще всего возникают в результате сочетания множества причин. Одной из которых, может быть непосредственное проникновение вируса SARS-CoV-2 в эндотелиальные клетки. Так, Z. Varga при гистологическом исследовании установил наличие фрагментов вируса SARS-CoV-2 и апоптотических телец в эндотелии микроциркуляторного русла легких, почек, печени, миокарда, тонкого кишечника и миокарда [158]. Другими причинами дисфункции эндотелия у больных COVID-19 могут быть иммуно-опосредованное поражение эндотелиоцитов и цитокиновый шторм [143]. Цитокины и белковые провоспалительные медиаторы являются ключевыми факторами, способствующими нарушению эндотелиальной функции [96]. Так, при протеомном анализе маркеров, отражающих воспаление и дисфункцию эндотелия в системном кровотоке, было показано, что наличие цитокинового шторма сочеталось с диффузным поражением сосудистого эндотелия [142]. По данным А. Petrey и соавт., повышение содержания провоспалительных цитокинов у больных COVID-19 прямо коррелирует с

увеличением уровней маркеров, отражающих системное сосудистое поражение по типу васкулита [117].

Таким образом, ЭКМО является частью арсенала средств респираторной поддержки критических пациентов с COVID-19 – ассоциированной пневмонией, позволяя протезировать дыхательную функцию у самой тяжелой категории пациентов. Нарастающий масштаб вспышек вирусных пневмоний в XXI веке диктует необходимость подготовки системы здравоохранения к последующим возможным эпидемиям. На данный момент статус пандемии SARS-CoV-2 все еще не снят Всемирной организацией здравоохранения, а значит описываемые проблемы продолжают встречаться в клинической практике и по сей день достаточно широко.

Одними из клинически-значимых осложнений проведения ЭКМО у пациентов с COVID-19 являются кровотечения и тромбозы, механизм развития которых, способы лечения, профилактики и прогнозирования продолжают изучаться мировым научным сообществом.

В первые 7 дней с момента начала ЭКМО у пациентов реализуются действительно COVID-19 ЭКМО-ассоциированные осложнения тромботического и геморрагического характера, а не осложнения, ассоциированные, например, с вторичной бактериальной внутрибольничной инфекцией [35, 127].

Представленный выше обзор литературы показал, что на сегодняшний день, несмотря на продолжающуюся научно-исследовательскую деятельность, неизученными остаются вопросы определения изменений системы гемостаза, динамики повреждения эндотелия сосудистой стенки, определения роли антитромбина-III, а также определения оптимальной антикоагулянтной терапии при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Общая характеристика пациентов и дизайн исследования

Представленное ретроспективно-проспективное исследование было проведено на базе инфекционного корпуса COVID-19 ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» в период с марта 2020 г. по март 2022 г.

Критерии включения пациентов:

- COVID-19 ассоциированная пневмония;
- применение ЭКМО;
- возраст старше 18 лет.

Критерии исключения пациентов:

- индекс SOFA на момент подключения ЭКМО > 12 баллов;
- индекс массы тела > 40.

Время подключения ЭКМО с момента начала ИВЛ > 7 дней

Для данного исследования в соответствии с критериями включения и исключения был собран материал по 100 пациентам с COVID-19 которым проводилось ЭКМО: 72 мужчины и 28 женщин в возрасте от 26 до 75 лет, медиана 55 лет [IQR 47;60]. Во всех наблюдениях проводилось ВВ-ЭКМО. Причиной развития дыхательной недостаточности, потребовавшей проведения ВВ-ЭКМО была COVID-19-ассоциированная пневмония в 100 (100%) наблюдениях.

56 пациентов было переведено из других лечебных учреждений для проведения ЭКМО, 44 было первично госпитализировано в инфекционный корпус COVID-19 НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Длительность ИВЛ до подключения ЭКМО приведена в таблице 1.

С 8 по 34 сутки наблюдения число кровотечений и тромбозов составило 18 и 30 эпизодов соответственно. Для сравнительной оценки результатов в зависимости от продолжительности ЭКМО были сформированы группы: малого срока наблюдения – 7 и менее суток (n=49) и долгого срока – 8 и более суток (n=51).

Таблица 1. Длительность ИВЛ до ЭКМО, длительность ЭКМО.

Параметры	COVID-19 ВВ-ЭКМО
Число пациентов	100
Длительность ИВЛ до ЭКМО, сутки (медиана, q1, q3)	1; q1; q3 [0;3]
Длительность ЭКМО, сутки (медиана, q1, q3)	8; q1; q3 [1;14]

В качестве дополнительной группы сравнения включено 120 пациентов с тяжелым течением COVID-19-ассоциированной пневмонии, не потребовавшей проведения экстракорпоральной мембранной оксигенации. Мужчин – 53%, женщин – 47%). По шкалам тяжести состояния больных: NEWS – $4,5 \pm 1,4$; SOFA – $6,1 \pm 1,3$.

Для достижения поставленной цели и решения сформулированных задач дизайн исследования предполагал анализ клинико-лабораторных данных пациентов в течение первых 7 суток проведения ЭКМО.

В этот период времени у пациентов реализуются действительно COVID-19 ЭКМО-ассоциированные осложнения тромботического и геморрагического характера, а не осложнения, ассоциированные, например, с вторичной бактериальной внутрибольничной инфекцией.

Кроме того, важно отметить, что первые 7 суток проведения представляют собой период времени, в течение которого ЭКМО проводилась у подавляющего большинства пациентов, вошедших в исследование (медиана длительности проведения ЭКМО 8 суток – см. главу 3).

Соответственно, именно в этот период получен наибольший объем данных о состоянии системы гемостаза. Для обеспечения возможности проведения последующего статистического анализа период проведения ЭКМО во всех наблюдениях был разделен на 24-часовые интервалы. Каждый такой 24-часовой интервал начинался срезом лабораторных данных, включавшим в себя все мониторируемые лабораторные параметры. Таким образом, в каждом отдельном клиническом наблюдении, вошедшем в исследование, количество анализируемых срезов не превышало 7. Все 24-часовые интервалы затем были разделены на 2

группы в зависимости от факта развития COVID-19 ЭКМО-ассоциированного геморрагического осложнения, а также на 2 группы в зависимости от факта развития COVID-19 ЭКМО-ассоциированного тромботического осложнения в течение этого 24-часового интервала (последующих после утреннего забора крови 24 часов):

группа 1 – COVID-19 ЭКМО-ассоциированное геморрагическое осложнение есть;

группа 2 – COVID-19 ЭКМО-ассоциированного геморрагического осложнения нет;

группа 3 – COVID-19 ЭКМО-ассоциированное тромботическое осложнение есть;

группа 4 – COVID-19 ЭКМО-ассоциированного тромботического осложнения нет.

При развитии COVID-19 ЭКМО-ассоциированного кровотечения или тромбоза фиксировали срез, непосредственно предшествовавший этому 24-часовому интервалу и сутки от начала момента ЭКМО. Фиксация суток от момента начала процедуры, в которые происходило развитие COVID-19 ЭКМО-ассоциированных геморрагических и тромботических осложнений, позволила сохранить временную шкалу и динамику изменений изучаемых показателей системы гемостаза в привязке ко времени проведения экстракорпоральной поддержки жизнедеятельности.

Наглядно дизайн исследования представлен на рисунке 6.

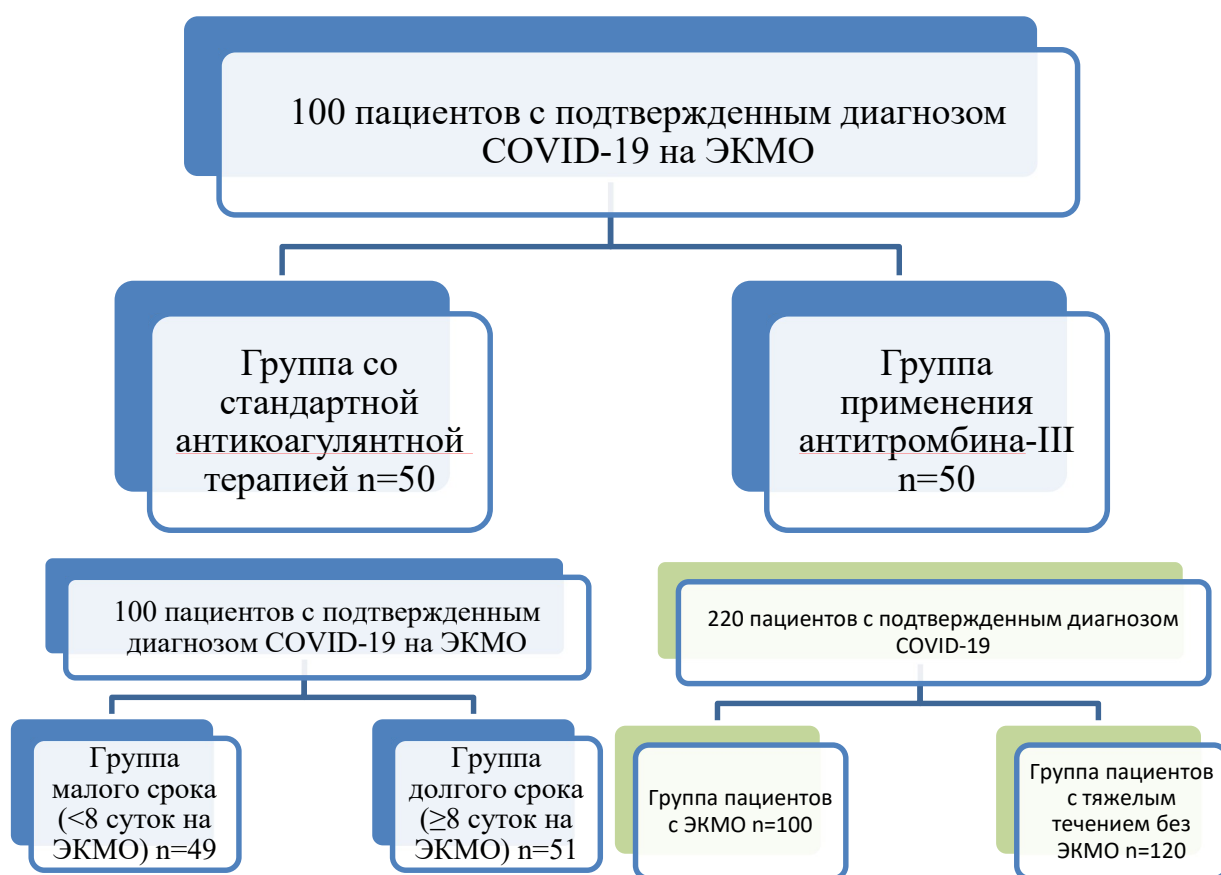


Рисунок 6. Дизайн исследования

2.2 Характеристика методов исследования

Клинический метод оценки состояния пациента

Клиническая оценка состояния пациента производилась ежедневно и включала в себя оценку неврологического статуса, физикального осмотра. Состояние всех пациентов оценивали при помощи шкал: RESP – при подключении ЭКМО, SOFA – ежедневно. В каждом наблюдении отмечали COVID-19 ЭКМО-ассоциированные геморрагические и тромботические осложнения.

Диагноз COVID-19 пневмонии устанавливался строго в соответствии с актуальными временными рекомендациями МЗ РФ и международными рекомендациями [20, 41].

Инструментальные методы

РГ, ЭХО, КТ, УЗИ. Проводили мониторинг витальных показателей – частоты сердечных сокращений (ЧСС) и дыхания (ЧД), артериального давления (АД), оксигенации крови SpO₂ – проводили при помощи прикроватных мониторов GE Carescape B105(GE Medical Systems, США).

Методы лабораторной диагностики

Общий (клинический) анализ венозной крови выполняли на гематологическом анализаторе «ADVIA 2120i», «Bayer», (США) в цельной венозной крови, биохимический анализ в сыворотке крови на биохимическом анализаторе «AU 2700» «Beckman Coulter», (США) с применением реактивов фирмы «Beckman Coulter», США. Исследования состояния системы гемостаза выполняли на автоматическом коагулометре «ACL TOP-700», Instrumentation laboratory (США). Интегральная оценка гемостаза производилась с помощью ручного метода тромбоэластометрии на компьютерном тромбоэластометре Rotem Delta (Pentapharm, Германия). Исследование кислотно-основного состояния и газов крови проводили на анализаторе «ABL 800» (RADIOMETER, Дания) в артериальной или смешанной венозной крови. Целевые значения мониторируемых параметров соответствовали актуальным временным рекомендациям МЗ РФ.

2.3 Методы интенсивной терапии

При проведении ЭКМО пациенты получали седативную терапию пропофолом. При развитии делирия и нарушениях ночного сна назначали дексметомедин. Показаниями для ее проведения были десинхронизация пациента с аппаратом ИВЛ и сохраняющаяся гипоксемия, несмотря на использование протективных режимов ИВЛ и ЭКМО. Использовали пропофол в дозе 1-2 мг/кг/час, дексметомедин в дозе 0,2 – 0,7 мг/кг/час. Для миорелаксации всегда использовали пипекурония бромид в дозе 0,07-0,08 мг/кг.

ИВЛ проводили аппаратами Mindray SV300 (Mindray, Китай) в режиме протективной ИВЛ: дыхательный объем 3 – 6 мл/кг, ПДКВ не менее 10-12 см H₂O с поддержанием нормовентиляции (PaCO₂ 35-45 мм.рт.ст.). При сохраняющейся гипоксемии у пациентов с COVID-19-ассоциированным ОРДС использовали prone-позицию в независимости от наличия у пациента ЭКМО. Трахеостомию выполняли хирургическим методом до установки ЭКМО в 40% случаев.

При развитии артериальной гипотензии увеличивали скорость введения и объем кристаллоидных растворов до 50 – 1000 мл/час и начинали терапию симпатомиметическими препаратами (норадреналин). При снижении сердечного выброса начинали инфузию бета-симпатомиметических препаратов (дофамин, добутамин) и принимали решение о целесообразности инфузии левосимендана.

ЭКМО начинали строго в соответствии с актуальными на момент подключения временными рекомендациями МЗ РФ и проводили ее на аппаратах ROTAFLOW (Maquet, Германия), STOCKERT, MEDOS DELTASTREAM, CARDIOHELP (Maquet, Германия). Для проведения выполняли канюляцию бедренной вены (канюля 21, 23, 25 Fr) для забора неоксигенированной крови из нижней полой вены и канюляцию внутренней яремной вены справа (канюля 17, 19, 21 Fr) для возврата оксигенированной крови в правое предсердие. При ВА ЭКМО возврат оксигенированной крови осуществляли в нисходящую аорту. Для этого производили канюляцию бедренной артерии (канюля 19, 21, 23 Fr). Сразу после канюляции болюсно вводили 35-50 Ед/кг нефракционированного гепарина.

При ВВ ЭКМО начальный поток крови устанавливали на уровне 30-50/мл/кг идеальной массы тела, при ВА ЭКМО – 50-70 мл/кг/мин с последующей коррекцией потока под контролем параметров оксигенации (PaO_2 60-80 мм.рт.ст., SpO_2 88-94%) для ВВ ЭКМО и параметров гемодинамики (АД ср. 65-75 мм.рт.ст., SvO_2 65-75%), достигали снижения лактата ниже 2 ммоль/л. Фракция кислорода в дыхательной смеси аппарата ЭКМО составляла 100%. Поток газа на аппарате ЭКМО достигали нормакапнии.

Все пациенты получали блокаторы протонной помпы (омепразол в дозе 80 – 120 мг в сутки внутривенно). Во всех наблюдениях начинали энтеральное питание в ранние сроки. Сбалансированные энтеральные питательные смеси вводили через назогастральный зонд с целевыми значениями 25 – 30 ккал/сутки, белок 1,2 – 1,5 г/кг/сутки. При парезе желудочно-кишечного тракта проводили парентеральное или комбинированное питание трехкомпонентными питательными смесями. Дополнительно с целью стимуляции моторики ЖКТ назначали солевые растворы и вазелиновое масло в назогастральный зонд, а так же начинали использование препаратов (церукал в дозе 10 мг., прозерин 15 мг. три раза в день, динатон в дозе 5 мг., при отсутствии побочных эффектов увеличивали до 10 мг.).

Концентрат АТ-III использовали при формировании резистентности к гепарину и/или снижении антитромбина-III менее 60%. Трансфузию концентрата тромбоцитов производили при тромбоцитопении менее $80-100 \cdot 10^9/л$, снижении $MSFex$ и/или нормальном уровне $MSFfib$. Трансфузию криопреципитата проводили при уменьшении плазменной концентрации фибриногена менее 1,5, снижении $MSFfib$ менее 7мм.

Доза гепарина подбиралась под контролем АЧТВ. При отсутствии геморрагических либо тромботических осложнений целевыми значениями АЧТВ были 55-70 сек. При развитии COVID-19 ЭКМО ассоциированных геморрагических осложнений корректировалась антикоагулянтная терапия, а доза гепарина снижалась вплоть до нуля под контролем показателей гемостаза.

2.4 Методы статистического анализа

Учет полученных в ходе исследования данных проводился с помощью персонального компьютера на операционной системе Windows 10 при помощи программы «Microsoft Excel 2007». Статистическая обработка данных производилась с использованием среды для статистических вычислений R 3.6.3 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) и пакета lme4 1.1-21, а также пакета STATISTICA 12 (Starsoft, США). Проверка нормальности распределения количественных признаков проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Большинство данных в проведенном исследовании не соответствует нормальному распределению, для анализа количественных признаков использовались непараметрические критерии Манна-Уитни. Количественные данные представлены в виде медианы (М) и квартилей (25%;75%). Для сравнения количественных переменных использовался тест Краскела-Уоллиса, в качестве post hoc метода использовался тест Данна с поправкой Холма для множественных сравнений. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента корреляции (ρ) Спирмена. Ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$. Анализ различий в группах для количественных признаков проводился с использованием критерия χ^2 . Проверка статистических гипотез и наличие статистической значимости устанавливалось при значении $p < 0,05$. Пороговые значения были оценены на основе J-статистики Юдена. Использовался коэффициент асимметрии и если он больше 2-х, то проводилась log-трансформация. Описательные статистики представлены в виде среднего (стандартное отклонение) и медианы (1-ый и 3-ий квартили). При анализе количественных переменных с выраженной правосторонней асимметрией (коэффициент асимметрии > 2) последние подвергались \log_2 -трансформации. Для анализа динамики показателей использовались смешанные линейные регрессионные модели с использованием базисных сплайнов 2-го порядка ($df = 3$). На основе полученных моделей проводилась оценка средних маргинальных эффектов. Для анализа ассоциации риска развития тромбоза и кровотечения

использовались робастные GEE-модели (generalized estimating equation) с использованием базисных сплайнов 2-го порядка ($df = 3$). На основе полученных моделей проводилась оценка средних маргинальных эффектов. Так как для разных пациентов имелось разное количество повторных наблюдений, для увеличения мощности использовались 2 типа моделей: GEE и смешанные линейные и смешанные обобщенные линейные модели. Тест Фридмана (и post hoc тест Вилкоксона) не применялся по 2 причинам: 1) структура данных такова, что для каждого пациента имелось разное количество повторных наблюдений причем на разных сроках, если производить группировку, то большая часть информации просто потеряется, что снизит мощность; 2) для этого теста кроме p-значения, нет интерпретируемой меры эффекта с соответствующим доверительным интервалом в отличие от регрессионных моделей. Структура полученных данных такова, что для каждого пациента имелось разное количество наблюдений, причем на разных сроках. Поэтому для анализа полученных данных был использован метод смешанных линейных и смешанных обобщенных линейных моделей (GEE, Generalized Linear Model). Рассчитывались коэффициенты Δ – градиент изменения или FC – кратность изменения. Отрицательное значение коэффициента Δ указывает на ежесуточное среднее снижение величины исследуемого параметра на соответствующее число единиц измерения параметра, положительное значение – на ежесуточное возрастание. Значение коэффициента FC больше единицы указывает на ежесуточное повышение параметра в указанное число раз, соответствующее величине коэффициента FC; значение меньше единицы – на снижение, например в 0,8 раза [22, 56]. Для сравнения групп использовались смешанные линейные регрессионные модели.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ: ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОСТАЗА, ДИНАМИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА И ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ, РОЛЬ АНТИТРОМБИНА – III, АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ

3.1 Оценка изменений системы гемостаза при COVID-19 в условиях ЭКМО

Причиной развития неблагоприятных исходов у пациентов с COVID-19 на ЭКМО являются геморрагические осложнения, наиболее частым и типичным из них является кровотечение из трахеобронхиального дерева, а также тромбозы различной локализации [3, 6, 26, 58]. В результате, поиск оптимального состояния системы гемостаза является одной из основных задач при лечении критических пациентов в условиях ЭКМО [90]. Поэтому мы решили провести сравнительную оценку динамики показателей гемостаза у пациентов с COVID-19 ассоциированной пневмонией с тяжелым течением, но не требующих подключения ЭКМО и пациентов с COVID-19 на ЭКМО, а также оценить динамику показателей гемостаза у пациентов на ЭКМО в отдельности.

Так, в 1 сутки у пациентов с ЭКМО регистрировали статистически значимое снижение относительно референсных интервалов протромбина по Квику 69% [59; 83] $p < 0,05$, фибриногена 2,15 г/л [1,60; 2,82] $p < 0,05$, антитромбина;III 87% [79; 100] $p < 0,05$, тромбоцитов $149 \cdot 10^9/\text{л}$ [104; 226] $p < 0,05$ и более высокий уровень D;димера 4,92 мг/л [1,97; 10,34] $p < 0,05$, из чего следует, что у пациентов с ЭКМО изначально были более грубые изменения как в одну, так и в другую сторону. По данным тромбозластометрии уменьшалась плотность сгустка.

За период наблюдения к 7 суткам у пациентов с ЭКМО протромбин по Квику статистически значимо возрастал с 69 [59; 83] до 77 [57; 91] % $p < 0,05$, фибриноген возрастал с 2,15 [1,60; 2,82] до 2,82 [1,79; 4,02] г/л $p < 0,05$, D;димер увеличивался с 4,92 [1,97; 10,34] до 6,15 [3,95; 12,44] мг/л $p < 0,05$, активность антитромбина;III снижалась с 87 [79; 100] до 78 [70; 93] % $p < 0,05$, а число тромбоцитов снижалось до критического уровня со 149 [104; 226] до 83 [40; 103] $10^9/\text{л}$ $p < 0,05$. ЭКМО

позволяло несколько снизить уровень гипокоагуляции, не позволяя усугубляться этим изменениям, а снижение активности антитромбина-III и рост уровня D-димера свидетельствовали о формировании прокоагулянтного состояния.

В группе пациентов с тяжелым течением на протяжении наблюдения показатели фибриногена оставались повышенными 4,93 [3,49; 6,11] г/л на 1 сутки и 4,23 [3,15; 5,68] г/л на 7 сутки $p < 0,05$; протромбин по Квику несколько возрастал за 7 суток с 79 [68; 91]% до 86 [74; 99]% $p < 0,05$ и приближался к нормальным значениям; D-димер оставался на достаточно низком уровне, 1,17 [0,45; 4,09] мг/л в 1 сутки и 1,28 [0,46; 3,23] мг/л $p < 0,05$ на 7 суток; активность антитромбина-III оставался в рамках референсных значений 96 [88; 109] % и 95 [82; 110]% $p < 0,05$ на 1 и 7 сутки соответственно; а так же возрастал и восстанавливался до нормальных значений уровень тромбоцитов со 190 [127; 266] 10^9 /л до 264 [159; 343] 10^9 /л $p < 0,05$. Таким образом менее выраженные изменения в сторону гипокоагуляции в группе тяжелого течения имели тенденцию к выравниванию без значимого сдвига в сторону тромбообразования.

Таким образом получается, что в группе с ЭКМО усугублялись изменения как в сторону гипокоагуляции, так и в сторону тромбообразования, что может быть обусловлено большей тяжестью состояния и необходимостью в дополнительной антикоагулянтной терапии в связи с проведением ЭКМО. Особенно сильными были различия в уровне тромбоцитов: если в группе тяжелого течения он восстанавливался почти до нормальных значений, то в группе с ЭКМО резко снижался. Таким образом в проведении ЭКМО нуждались пациенты, у которых изначально были более глубокие изменения как свертывающей, так и противосвертывающей системы. При этом, проведение ЭКМО позволяло избежать дальнейшего снижения протромбина по Квику и фибриногена, но изменения таких показателей как D-димер, антитромбин-III, тромбоциты сохранялись, что обуславливало сложность ситуации. Изменения носили разнонаправленный характер и имели тенденцию к усугублению в группе с ЭКМО в первые 7 суток.

К 7 суткам отмечено статистически значимое снижение уровня фибриногена и протромбина по Квику, активности АТ и протеина С, увеличение уровня D-

димера. (таблица 2). При сравнении с группой тяжелого течения эти изменения в системе гемостаза связаны с развитием коагулопатии потребления, причинами которой может быть более тяжелое течение COVID-19, включение экстракорпорального контура в сосудистое русло, кровотечения в 1 неделю, а также присоединение вторичной бактериальной инфекции.

Таблица 2. Изменение показателей системы гемостаза у больных с тяжелым течением COVID-19.

Показатель	Сутки		p
	1	7	
Пациенты с ЭКМО n = 100			
ПТ по Квику, %	69 [59; 83]	77 [57; 91]	0,016
Фибриноген, г/л	2,15 [1,60; 2,82]	2,82 [1,79; 4,02]	0,001
D-димер, мг/л	4,92 [1,97; 10,34]	6,15 [3,95; 12,44]	0,005
АТ III, %	87 [79; 100]	78 [70; 93]	0,043
Протеин С, %	122 [91; 136]	98 [85; 118]	0,287
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	149 [104; 226]	83 [40; 103]	0,025
Пациенты с тяжелым течением COVID;19 n = 120			
ПТ по Квику, %	79 [68; 91] *	86 [74; 99] •	0,034
Фибриноген, г/л	4,93 [3,49; 6,11] *	4,23 [3,15; 5,68] •	0,040
D-димер, мг/л	1,17 [0,45; 4,09] *	1,28 [0,46; 3,23] •	0,006
АТ III, %	96 [88; 109] *	95 [82; 110]	0,033
Протеин С, %	104 [88; 133]	129 [104; 156]	0,339
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	190 [127; 266] *	264 [159; 343] •	0,023

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к пациентам с ЭКМО, 1 сутки; • $p < 0,05$ по отношению к пациентам с ЭКМО, 7 сутки.

Если в группе тяжелого течения эти изменения были доступны коррекции и нормализовывались, то добиться стабилизации и управляемости в группе с ЭКМО представлялось крайне сложной задачей. Метод смешанных обобщенных линейных моделей (GEE, Generalized Linear Model) позволил оценить изменения антикоагулянтных и прокоагулянтных лабораторных показателей, происходившие в группе с ЭКМО. На фоне проведения ЭКМО и соответствующей

антикоагулянтной терапии было установлено, что в общей группе пациентов с COVID-19 на ЭКМО статистически значимо АЧТВ увеличивалось в среднем на 2.37 секунд [ДИ 95% -2.38; 7.11] каждый день ($p = 0.0208$). Тромбоциты в среднем снижались на $27.00 \times 10^9/\text{л}$ [ДИ 95% -31.58; -22.42] в сутки. Протромбин по Квику в среднем уменьшался в 0.94 раза [ДИ 95% 0.89; 0.98] каждый день. Фибриноген в среднем уменьшался в 0.91 раза [ДИ 95% 0.86; 0.96] каждый день. Динамика показателей тромбоэластограммы свидетельствовала о снижении плотности сгустка, что отражено в таблице 3. Изменения исследуемых лабораторных показателей последовательно посуточно нарастали.

Таблица 3. Динамика показателей гемостаза у пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО.

Показатель	Δ/FC [95% ДИ]	p
АЧТВ [Δ]	2,37 [-2,38; 7,11]	0,0208
Антитромбин-III [Δ]	-2,42 [-6,12; 1,29]	0,3395
Тромбоциты $\times 10^9$ [Δ]	-27,00 [-31,58; -22,42]	<0,0001
Протромбин по Квику [FC]	0,94 [0,89; 0,98]	0,0132
МНО [FC]	1,06 [1,02; 1,10]	0,0101
ПВ [FC]	1,06 [1,02; 1,09]	0,0092
Тромбин. Вр. [Δ]	1,26 [-6,32; 8,84]	0,2602
Фибриноген [FC]	0,91 [0,86; 0,96]	0,0001
СТ-Инт [FC]	1,09 [0,87; 1,37]	0,6683
СТФ-Инт [FC]	1,21 [0,97; 1,51]	0,1465
МСФ-Инт [Δ]	-3,17 [-5,70; -0,64]	0,0263
МСЕ-Инт [Δ]	-18,11 [-32,16; -4,07]	0,0324
СТ-Экст [FC]	1,04 [0,87; 1,25]	0,2426
СФТ-Экст [FC]	1,23 [1,03; 1,48]	0,0554
МСФ-Экст [Δ]	-1,96 [-4,39; 0,46]	0,0445
МСЕ-Экст [Δ]	-17,02 [-28,21; -5,82]	0,0011

Продолжение таблицы 3

СТ-Фиб [FC]	1,06 [0,88; 1,28]	0,1449
МСФ-Фиб [Δ]	-0,51 [-1,95; 0,92]	0,4104
СТ-Геп [Δ]	-4,67 [-23,79; 14,46]	0,0997
СФТ-Геп [FC]	1,00 [0,70; 1,43]	0,3513
МСФ-Геп [Δ]	-0,45 [-4,24; 3,34]	0,0414
МСЕ-Геп [Δ]	-3,12 [-19,27; 13,03]	0,1484

Примечание: ДИ – доверительный интервал, p – уровень значимости различий, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, МНО – международное нормализованное отношение, ПВ – протромбиновое время, СТ – время свертывания, МСФ – максимальная плотность сгустка, МСЕ – максимальная эластичность сгустка, СФТ – время образования сгустка, Инт – тест активации внутреннего пути свертывания, Экст – тест активации внешнего пути свертывания, Фиб – тест вклада фибриногена в плотность сгустка, Геп – тест с гепариназой на наличие свободного гепарина.

Разнонаправленность изменений при COVID-19 и необходимость поддержания целевого уровня гипокоагуляции при проведении ЭКМО обуславливали крайнюю нестабильность свертывающей и противосвертывающей систем, подходы к коррекции которых не изучены и с клинической точки зрения представляли большую сложность. Кроме того, резкие изменения как в сторону гиперкоагуляции, так и гипокоагуляции носили непредсказуемый характер и представляли большую сложность с клинической точки зрения, что согласуется с данными литературы [90, 108, 177] и на настоящий момент рекомендации в этом отношении не выработаны.

Таким образом, в ЭКМО нуждались пациенты с более выраженными изменениями как свертывающей, так и противосвертывающей системы. В обеих группах изменения носили разнонаправленный характер, тогда как у пациентов с ЭКМО они были более выраженными. В ходе лечения у пациентов без ЭКМО эти

изменения не нарастали, а по ряду показателей статистически значимо изменялись в сторону нормализации, в то время как в группе с ЭКМО по ряду показателей усугублялись.

В полученных результатах исследования мы видим разнонаправленную динамику показателей гемостаза у пациентов, не потребовавших применения ЭКМО и пациентов, подключенных к экстракорпоральной системе жизнеобеспечения, что может свидетельствовать об активном течении патологических процессов, отражающихся на показателях свертывающей системы крови в группе ЭКМО. Концентрация D-димера увеличивалась незначительно, что свидетельствовало о продолжающемся процессе распада фибрина, разница в интенсивности роста уровня D-димера была связана с наличием экстракорпорального контура.

Изменения показателей гемостаза у критических пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО носили непредсказуемый характер, их коррекция и достижение баланса тяжело достижимы и тактика стандартных рекомендаций [2, 51] не позволяла добиться стабилизации.

3.2 Маркеры повреждения эндотелия, окислительного стресса и воспаления при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19

Одной из причин высокой смертности пациентов с тяжелым течением COVID-19, нуждающихся в ЭКМО, является выраженный системный воспалительный ответ на генерализацию SARS-CoV-2 и присоединение внутрибольничной инфекции, что затрудняло оценку эффективности процедуры ЭКМО. Патогенетическим следствием септических проявлений новой коронавирусной инфекции выступает повреждение эндотелия, приводя к развитию полиорганной недостаточности и ухудшая прогноз. При отсутствии эффективности механической вентиляции легких у критических пациентов проведение процедуры ЭКМО становится неизбежным. Для оценки выраженности системной воспалительной реакции, состояния эндотелия и наличия оксидативного стресса

было проведено динамическое исследование ряда маркеров, так как помимо самой методики ЭКМО все вышеперечисленные факторы влияют на состояние системы гемостаза у пациентов с COVID-19.

В таблице 4 отражена динамика уровня оксида азота (NOx), ангиотензин-превращающего фермента (АПФ/ ACE – angiotensin-converting enzyme) и их соотношения NOx/ACE, концентрации малонового диальдегида в крови и общий антиоксидантный статус (TAS, Total antioxidant status).

Таблица 4. Динамика маркеров повреждения эндотелия и окислительного стресса.

Характеристика	1 сутки N = 55	3 сутки N = 45	7 сутки N = 36	p
NOx, 20-40 мкмоль/л				0,0979
Среднее (СтО)	12,4 (13,2)	13,0 (9,5)	16,0 (11,4)	
Медиана [ИКР]	8,0 [4,8; 14,4]	9,3 [5,1; 20,0]	13,7 [6,4; 21,4]	
ACE, 20-70 ед				0,4099
Среднее (СтО)	35,1 (17,5)	33,2 (20,8)	32,2 (21,6)	
Медиана [ИКР]	32,2 [20,9; 49,4]	27,6 [18,8;38,8]	26,6 [16,4; 39,5]	
NOx/ACE				0,0627
Среднее (СтО)	1,1 (1,8)	1,4 (2,8)	1,5 (1,4)	
Медиана [ИКР]	0,6 [0,3; 1,0]	0,7 [0,4; 1,2]	0,8 [0,5; 2,0]	
MDA, $\geq 1,2$ нмоль/мл				0,0835
Среднее (СтО)	3,8 (0,6)	3,9 (0,6)	4 (0,9)	
Медиана [ИКР]	3,87 [3,36; 4,23]	3,93 [3,5; 4,3]	3,83 [3,38; 4,40]	
TAS, 1,5-2,75 ммоль/л				0,2311
Среднее (СтО)	1,36 (0,6)	1,39 (0,6)	1,5 (0,7)	
Медиана [ИКР]	1,42 [0,9; 1,7]	1,46 [0,96;1,71]	1,49 [1,17; 1,87]	

Примечание: NOx – оксид азота, ACE – ангиотензинпревращающий фермент, MDA – малоновый диальдегид, TAS – общий антиоксидантный статус, СтО – стандартное отклонение, ИКР – межквартильный диапазон, p – уровень значимости различий.

Уровень оксида азота колебался в нижнем диапазоне референсных значений

и ниже: 1 сутки Me 8,0 [4,8; 14,4] мкмоль/л, 3 сутки Me 9,3 [5,1; 20,0] мкмоль/л, 7 сутки 13,7 [6,4; 21,4] мкмоль/л. Статистически значимых изменений элементарными методами непараметрической статистики не было выявлено, однако при применении смешанных линейных и смешанных обобщенных линейных моделей (GEE, Generalized Linear Model) был получен коэффициент $\Delta = -0,85 [-2,89; 1,19]$, $p=0,0173$, который указывал на среднее ежесуточное снижение уровня оксида азота на 0,85 мкмоль/л [22]. Следовательно, наблюдался дефицит оксида азота и этот дефицит нарастал в 7-суточный период наблюдения, что указывало на наличие и прогрессирование эндотелиальной дисфункции и формирование условий для тромбообразования.

Концентрация ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) колебалась также в пределах референсного диапазона, преимущественно в нижнем диапазоне значений и ниже: 1 сутки Me 32,2 [20,9; 49,4] ед., 3 сутки Me 27,6 [18,8; 38,8] ед., 7 сутки 26,6 [16,4; 39,5] ед. Статистически значимых изменений за наблюдаемый период не было выявлено.

Соотношение «оксид азота/ангиотензинпревращающий фермент» (NOx/ACE) было статистически значимо ниже в первые сутки по сравнению с седьмым днем наблюдения: 0.6 [0.3; 1.0] против 0.8 [0.5; 2.0], $p=0,0446$. Однако при множественном сравнении была обозначена лишь тенденция к росту NOx/ACE на уровне значимости различий $p=0,0627$.

Малоновый диальдегид (МДА, MDA), накопление которого выше уровня 1,2 нмоль/мл указывает на наличие оксидативного стресса в организме, более чем в три раза превышал указанный уровень на всем периоде наблюдения, составив в 1 сутки в среднем Me 3,87 [3,36; 4,23] нмоль/мл, на 3 сутки Me 3,93 [3,5; 4,3] нмоль/мл, на 7 сутки – Me 3,83 [3,38; 4,40] нмоль/мл.

Общий антиоксидантный статус (TAS – Total antioxidant status), отражающий количественное значение реактивных форм кислорода и одновременно возможность ферментов, белков и витаминов подавлять негативное действие свободных радикалов на клеточном уровне, статистически значимо не изменялся: 1 сутки Me 1,42 [0,9; 1,7] ммоль/л, 3 сутки Me 1,46 [0,96; 1,71] ммоль/л, 7 сутки –

Me 1,49 [1,17; 1,87] ммоль/л. Значения показателя находились в пределах референсного интервала, что указывало на сохранность в целом баланса между оксидантной и антиоксидантной системами. Углубленным и более мощным статистическим методом анализа, методом смешанных линейных и смешанных обобщенных линейных моделей (GEE, Generalized Linear Model) был получен коэффициент $\Delta = -0,16 [-0,30; -0,03]$, $p=0,0053$, который свидетельствовал, что ежедневно в среднем показатель TAS снижался на величину 0,16 ммоль/л (табл 5).

Таблица 5. Динамика маркеров повреждения эндотелия и окислительного стресса.

Показатель	Δ/FC [95% ДИ]	p
МДА [Δ]	-0,03 [-0,20; 0,14]	0,8654
TAS [Δ]	-0,16 [-0,30; -0,03]	0,0053
NO _x [Δ]	-0,85 [-2,89; 1,19]	0,0173
ACE [Δ]	-5,70 [-11,86; 0,46]	0,2178

Примечание: NO_x – оксид азота, ACE – ангиотензинпревращающий фермент, MDA – малоновый диальдегид, TAS – общий антиоксидантный статус, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, p – уровень значимости различий.

Оксид азота, являясь основным эндогенным вазодилататором, медиатором эндотелий зависимой вазодилатации обеспечивает защиту тканей от повреждений из-за низкого кровоснабжения, играет ключевую роль в почечном контроле гомеостаза внеклеточной жидкости, способствует регуляции сократимости сердца, тормозит агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов, инфильтрацию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов. Все протективные эффекты проявляются в пределах референсных значений. При нарушении синтеза или активности оксида азота создаются условия для вазоконстрикции, повышения агрегации тромбоцитов, адгезии лейкоцитов; то есть создаются условия для тромбообразования. Выработка и функция оксида азота нарушается в условиях окислительного стресса. Чрезмерное количество оксида азота может наблюдаться при септическом шоке, тогда происходит стойкое снижение артериального

давления. Чрезмерное количество оксида азота приводит к тому, что он связывается с ядром и блокирует синтез ДНК, клетка погибает. Чрезмерное выработка оксида азота при сепсисе обусловлена тем, что индуцибельная синтаза, фермент катализирующий выработку оксида азота, может очень хорошо активироваться с помощью липополисахаридов.

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) является контрфактором оксиду азота в регуляции сосудистого тонуса, способствуя преобразованию ангиотензина I в мощный вазоконстриктор ангиотензин II, который сужает сосуды, что вызывает повышение артериального давления.

В нормальных условиях доказанным фактом является наличие прямой линейной корреляционной связи между оксидом азота и ангиотензин-превращающим ферментом; их соотношение (NOx/ACE) около 1,0 свидетельствует о сохранности нормальной регуляции сосудистого тонуса. Смещение соотношения в сторону больше единицы соответствует вазодилатации, в сторону меньше единицы – вазоконстрикции.

Малоновый диальдегид является вторичным продуктом распада перекисного окисления липидов, подавляет активность гидроксилаз и цитохром-оксидаз, угнетая тем самым тканевое дыхание). Его накопление отражает степень оксидативного стресса в организме. Накоплением в крови МДА объясняется синдром интоксикации, сопровождающий многие заболевания внутренних органов.

Общий антиоксидантный статус (TAS) – показатель антиоксидантной системы организма, который отражает количественное значение реактивных форм кислорода. Реактивные формы кислорода не участвуют в клеточном дыхании, но нужны для передачи сигналов от молекул, регуляции работы гормонов, для транспорта; они принимают участие в жизнедеятельности практически всех клеток организма. В свою очередь вещества-антиоксиданты позволяют сбалансировать воздействие свободных радикалов. Последние постоянно образуются в организме и в норме мало влияют на работу клеток, благодаря антиоксидантам. Метод исследования TAS, как вспомогательный, позволяет оценивать эффективность

проводимого лечения, что особенно актуально при проведении ЭКМО, так как методология ЭКМО предусматривает использование повышенных концентраций кислорода, и, соответственно, окислительный стресс является неотъемлемой частью негативного воздействия работы оксигенатора при процедурах искусственного кровообращения, в том числе ЭКМО.

Зарегистрированный в исследовании дефицит оксида азота (1 сутки 8,0 [4,8; 14,4] мкмоль/л, 3 сутки 9.3 [5,1; 20,0], 7 сутки 13.7 [6.4; 21.4] мог являться следствием как самой коронавирусной инфекции, так и отчасти следствием искусственной оксигенации, ЭКМО. Троекратно увеличенный уровень малонового диальдегида указывал на наличие оксидативного стресса. Дефицит оксида азота ассоциирован со снижением его протективного воздействия, с эндотелиальной дисфункцией, вазоконстрикцией и созданием благоприятных условий для тромбообразования. Все эти нарушения ежедневно усугублялись вместе со снижением уровня оксида азота в крови (Δ -0,85 [-2,89; 1,19], $p=0,0173$). Гиперзначений оксида азота, характерных для септического шока, почти не регистрировалось.

Компенсаторного повышения активности контрфактора регуляции сосудистого тонуса – ангиотензинпревращающего фермента – отмечено не было; вероятнее всего из-за тяжести состояния и оксидативного воздействия самой процедуры ЭКМО.

На нарушение сосудистой регуляции указывало также отсутствие корреляции между оксидом азота и ангиотензинпревращающим ферментом. В нормальных условиях эта связь носит прямой линейный характер. Выявленное отсутствие корреляции (1 сутки $R=-0,12$ [-0.34; 0.11], $p=0.4247$; 3 сутки $R=-0,003$ [-0.21; 0.20], $p=0.9808$; 7 сутки $R=-0.08$ [-0.37; 0.21], $p=0.6238$) предполагает нарушение физиологических взаимосвязей между оксидом азота и ангиотензинпревращающим ферментом в ранние сроки после подключения ЭКМО у пациентов с COVID-19, что соотносится с наблюдавшейся в процессе лечения нестабильностью сосудистого тонуса (таблица 6, рисунок 7).

Таблица 6. Корреляция показателей оксида азота и ангиотензинпревращающего фермента.

Показатель	Сутки	ACE
NOx	1 сутки	-0,12 [-0.34; 0.11] p=0.4247
	3 сутки	-0,003 [-0.21; 0.20] p=0.9808
	7 сутки	-0.08 [-0.37; 0.21] p=0.6238

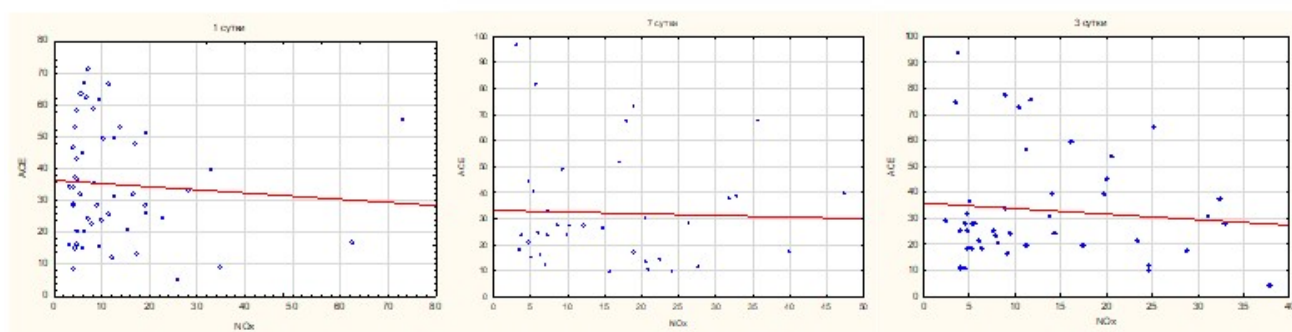


Рисунок 7. Корреляция показателей оксида азота и ангиотензинпревращающего фермента.

Несмотря на повышение продукции малонового диальдегида (1 сутки 3,87 [3,36; 4,23] нмоль/мл, 3 сутки 3,93 [3,5; 4,3] нмоль/мл, 7 сутки 3,83 [3,38; 4,40] нмоль/мл) общий антиоксидантный статус существенно не был нарушен, и в целом баланс оксидантного воздействия и антиоксидантной защиты был сохранен (TAS 1 сутки 1,42 [0,9; 1,7] ммоль/л, 3 сутки 1,46 [0,96; 1,71] ммоль/л, 7 сутки 1,49 [1,17; 1,87] ммоль/л).

Вероятнее всего, проведение ЭКМО обеспечивало адекватную оксигенацию, сдерживая накопление свободных радикалов. Адекватная оксигенация и базовая терапия позволяли поддерживать приемлемый уровень системы антиоксидантной защиты; приемлемый, но не оптимальный, так как снижалась вазопротективная функция оксида азота, нарушалась регуляция сосудистого тонуса, формировались благоприятные условия для тромбообразования вследствие эндотелиальной

дисфункции.

С целью контроля воспалительного ответа был проведен анализ динамики С-реактивного белка, числа лейкоцитов, лимфоцитов, эозинофилов, отношения числа нейтрофилов к лейкоцитам (Ne/Ly), тромбоцитов к лимфоцитам (Tr/Ly), произведения числа тромбоцитов и нейтрофилов к лимфоцитам (Tr x Ne/Ly) (таблица 8).

У пациентов, подключенных к ЭКМО, уже в первые сутки уровень С-реактивного белка (СРБ) был повышен – среднее значение составило $31,9 \pm 39$ мг/мл, медиана 11,5 [2,1; 49,5] мг/мл; и далее этот показатель статистически значимо возрастал ($p=0,0002$), составив к третьим суткам Me 44,4 [5,3; 90,8] мг/мл, а к седьмым – Me 76,3 [25,3; 162,5] мг/мл (рисунок 8).

Таблица 8. Динамика маркеров воспалительного ответа.

Характеристика	1 сутки N = 55	3 сутки N = 45	7 сутки N = 36	p
СРБ г/л				0,0002
<i>Среднее (СтО)</i>	31,9 (39,0)	67,1 (77,2)	99,3 (83,6)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	11,5 [2,1; 49,5]	44,4 [5,3; 90,8]	76,3 [25,3; 162,5]	
лейк. $\times 10^9$ кл/л				0,9152
<i>Среднее (СтО)</i>	14,7 (8,0)	14,2 (7,9)	14,0 (7,2)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	14,9 [8,6; 19,9]	13,1 [8,3; 18,2]	13,7 [8,6; 18,4]	
эозин. %				0,0513
<i>Среднее (СтО)</i>	0,5 (0,5)	1,0 (1,1)	1,2 (1,7)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	0,3 [0,2; 0,8]	0,6 [0,2; 1,5]	0,4 [0,2; 1,4]	
лимф. %				0,3833
<i>Среднее (СтО)</i>	5,5 (4,8)	5,6 (4,1)	6,9 (6,2)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	4,2 [2,4; 6,7]	5,3 [2,8; 7,8]	5,7 [3,2; 8,3]	
Ne/Ly NLR	реф. инт. = 0,88-4,0			0,3661
<i>Среднее (СтО)</i>	29,2 (22,4)	31,9 (33,7)	25,1 (24,8)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	22,0 [13,3; 38,4]	16,8 [11,3; 32,9]	15,9 [10,0; 27,0]	
Tr/Ly PLR	реф. инт. = 49-198			<0,0001

Продолжение таблицы 8

Среднее (СтО)	397 (344)	270 (309)	162,4 (184)	
Медиана [ИКР]	318 [160; 499]	182 [97; 304]	109,2 [82; 166]	
TrNe/Ly SII	реф. инт. = 142-804			<0,0001
Среднее (СтО)	4649 (4266)	3137 (4240)	1815 (1576)	
Медиана [ИКР]	3836 [1880; 6383]	2099 [905; 3393]	1256 [682 ; 2716]	

Примечание: СРБ – С-реактивный белок, лейкоц. – лейкоциты, эозин. – эозинофилы, лимф. – лимфоциты, NLR – отношение нейтрофилов к лимфоцитам, PLR – отношение тромбоцитов к лимфоцитам, SII – системный иммуновоспалительный индекс, СтО – стандартное отклонение, ИКР – межквартильный диапазон, *p* – уровень значимости различий, реф. инт. – референсный интервал.

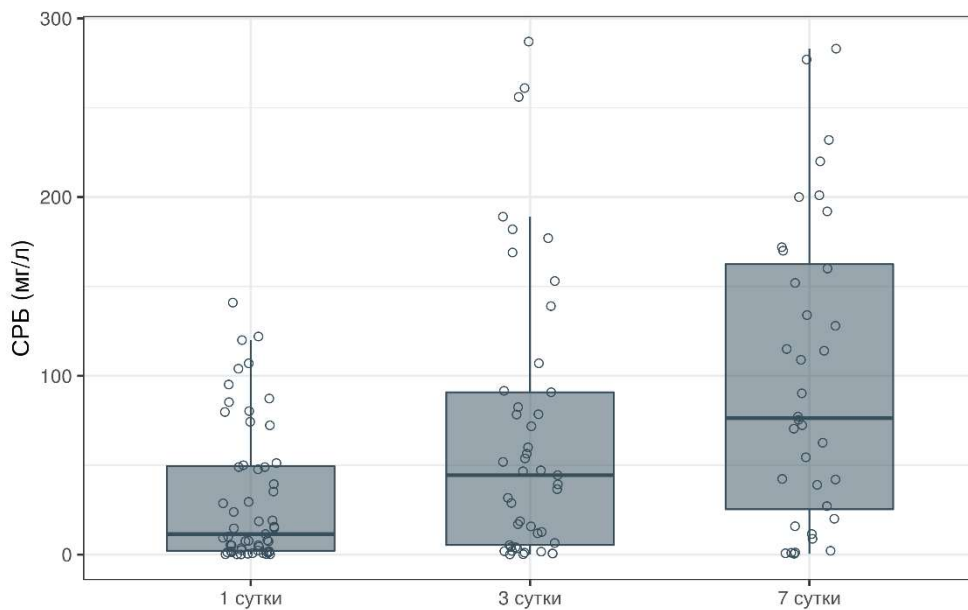


Рисунок 8. Динамика С-реактивного белка.

Общее количество лейкоцитов составило 14,9 [8,6; 19,9] тыс. кл/мкл и статистически значимо не изменялось на всем протяжении наблюдения. При этом у всех пациентов отмечался устойчивый нейтрофилез (1 сутки Ме 12,8 [7,8; 17,7]; 3 сутки Ме 11,3 [7,7; 16,0]; 7 сутки Ме 11,6 [6,6; 16,1] тыс. кл/мкл; $p=0,86$) и выраженная лимфоцитопения (1 сутки Ме 0,5 [0,3; 0,9]; 3 сутки Ме 0,5 [0,3; 0,9]; 7 сутки 0,7 [0,4;

0,9] тыс. кл/мкл; $p=0,42$), а также эозинофилия (1 сутки Me 0.3 [0.2; 0.8]; 3 сутки Me 0.6 [0.2; 1.5]; 7 сутки Me 0.4 [0.2; 1.4] $\times 10^9/\mu$)

В рисунках 9, 10 представлены данные расчетных гематологических индексов, получивших широкое распространение для оценки течения и прогноза исхода коронавирусной инфекции.

Отношение нейтрофилов к лимфоцитам (нейтрофилы/лимфоциты, neutrophil-to-lymphocyte ratio – NLR) рассчитывается как абсолютное количество нейтрофилов, деленное на абсолютное количество лимфоцитов. Более высокие показатели индекса по данным литературы были ассоциированы с более тяжелым течением коронавирусной инфекции, низкие показатели – с нетяжелым течением [140]. В мета-анализе Chan S.A. 2020 года, включающим 19 исследований и 3478 наблюдений, при тяжелом течении COVID-19 средние значения индекса составили 3,8 – 15,0, а при нетяжелом – от 1,9 до 4,1 [34]. Kazancioglu S. и соавторы предложили оптимальную точку отсечения – 2,47 [81]. В исследовании Rokni M. и соавторов (2020 г) индекс выше 5,0 отмечался у 93% умерших пациентов [133].

Средние значения индекса в настоящем исследовании составили: 1 сутки Me 22,0 [13,3; 38,4], 3 сутки Me 16,8 [11,3; 32,9], 7 сутки Me 15,9 [10,0; 27,0]. Полученные данные указывали на крайне тяжелое течение заболевания и на неблагоприятный прогноз. При множественном сравнении статистически значимые различия не выявлялись ($p=0.3661$), однако при попарном сравнении значения 7-х суток были статистически значимо ниже по сравнению с 1-ми сутками ($p=0,0145$), что указывало на эффективность проводимой терапии и регресс проявлений коронавирусной инфекции.

Отношение тромбоцитов к лимфоцитам (тромбоциты/лимфоциты, platelet-to-lymphocyte ratio -PLR) рассчитывается как абсолютное количество тромбоцитов, деленное на абсолютное количество лимфоцитов. Более высокие показатели индекса по данным литературы были ассоциированы с более тяжелым течением коронавирусной инфекции, низкие показатели – с нетяжелым течением. В том же мета-анализе Chan S.A. 2020 года при тяжелом течении COVID-19 средние значения индекса составили 160-437, а при нетяжелом – от 130 до 243 [34].

Предложенная Kazancıoğlu S. и соавторами оптимальная точка отсечения – 230 [81]. В исследовании Rokni M. и соавторов (2020 г.) индекс выше 200,0 отмечался у 71% умерших пациентов [133].

В настоящем исследовании средние значения составили: 1 сутки Me 318,0 [160,0; 499,5], 3 сутки Me 182,0 [97,0; 304,2], 7 сутки Me 109,2 [82,5; 166,0]. Значения индекса статистически значимо снижались ($p < 0,0001$) в ходе лечения, что также указывало на эффективность проводимой терапии и регресс проявлений коронавирусной инфекции, повышение вероятности выживания.

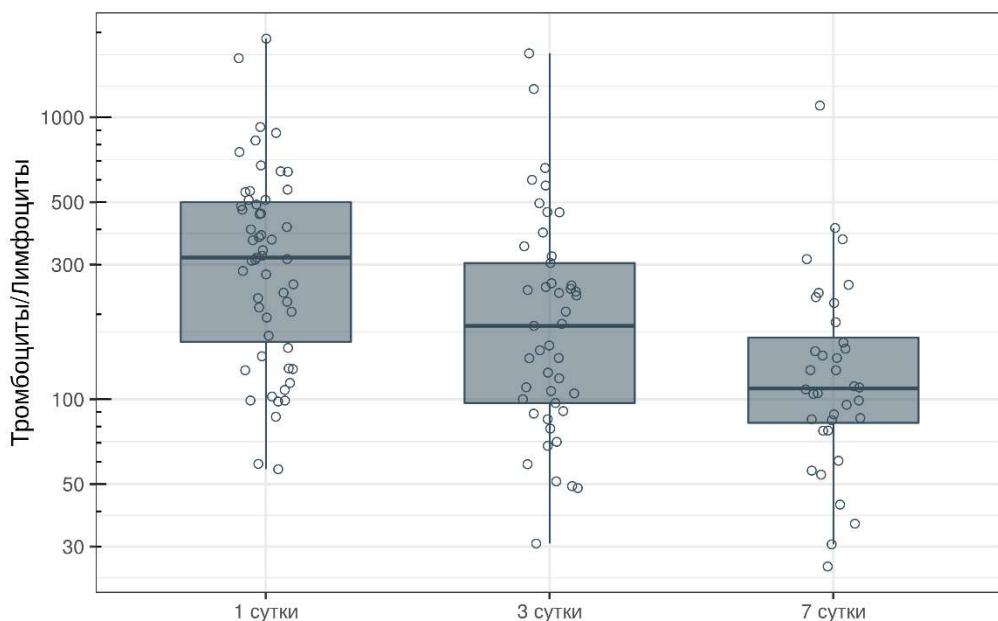


Рисунок 9. Динамика соотношения Тромбоциты/Лимфоциты.

Отношение «тромбоциты x нейтрофилы/лимфоциты» обозначено в литературе как индекс системного иммунного воспаления (systematic immune-inflammation index – SII) и рассчитывается как отношение произведения абсолютного числа тромбоцитов и нейтрофилов к абсолютному числу лимфоцитов. Более высокие показатели индекса по данным литературы были ассоциированы с более тяжелым течением коронавирусной инфекции, низкие показатели – с менее тяжелым. Rokni M. и соавторы (2020 г.) установили, что индекс выше 500 отмечался у 92,9% умерших пациентов, а среднее значение индекса у умерших пациентов составило $3532,9 \pm 565,3$, а у выживших – $1163,5 \pm 102,9$ [133].

В настоящем исследовании средние значения составили: 1 сутки – Ме 3,836.0 [1,880.7; 6,383.5], 3 сутки – Ме 2,099.2 [905.9; 3,393.4], 7 сутки – Ме 1,256.4 [682.4; 2,716.9]. Значения индекса статистически значимо ($p < 0,0001$) снижались в ходе лечения, что указывало на снижение тяжести течения коронавирусной инфекции.

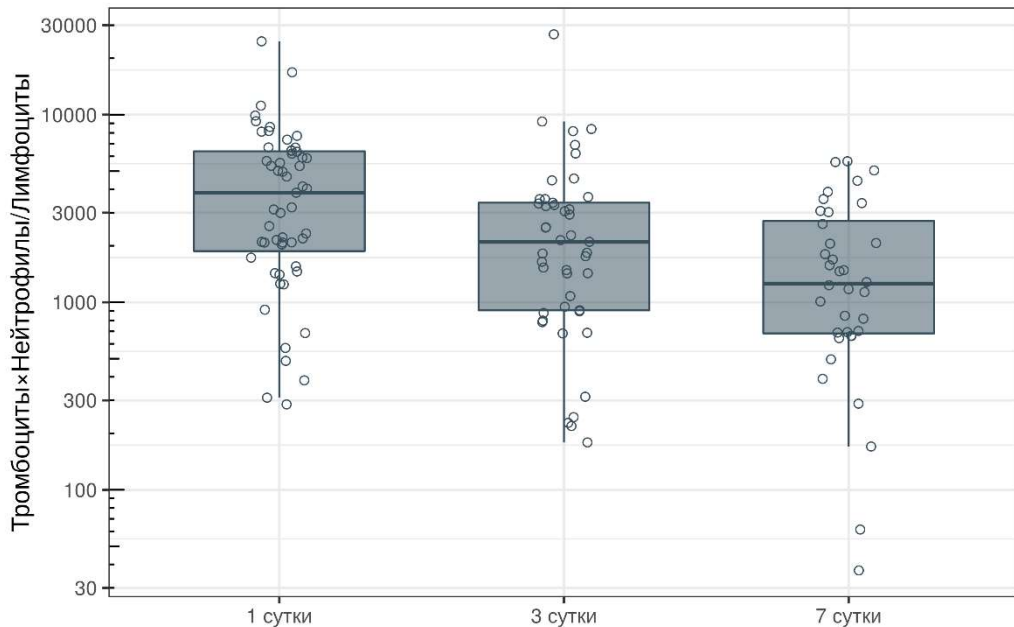


Рисунок 10. Динамика соотношения Тромбоциты × Нейтрофилы / Лимфоциты.

Для оценки вклада гемодилюции в динамику лабораторных показателей мы изучили данные общего анализа крови (таблица 9). Исходя из чего можно судить о наличии мнимого благополучия в отношении числа лейкоцитов, число которых на протяжении наблюдения оставалось неизменным.

В ходе наблюдения была отмечена прогрессирующая анемия, гемодилюция. У исследуемых пациентов было отмечено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение гемоглобина 1 сутки – Ме 115.0 [99.5; 128.0], 3 сутки – Ме 101.0 [92.0; 109.0], 7 сутки – Ме 95.0 [86.8; 103.0], числа эритроцитов 1 сутки – Ме 3.8 [3.3; 4.3], 3 сутки – Ме 3.4 [3.1; 3.7], 7 сутки – Ме 3.3 [2.9; 3.4], нейтрофилов 1 сутки – Ме 89.5 [86.1; 92.6], 3 сутки – Ме 88.3 [84.6; 91.1], 7 сутки – Ме 86.8 [82.0; 89.5], тромбоцитов 1 сутки – Ме 149.0 [104.0; 226.0], 3 сутки – Ме 96.0 [65.0; 138.0], 7 сутки – Ме 82.5 [40.2; 102.8], гематокрита 1 сутки – Ме 34.0 [29.7; 38.6], 3 сутки – Ме 30.6 [28.5; 34.0], 7 сутки – Ме 29.0 [26.7; 31.6], тромбокриты 1 сутки – Ме 0.2

[0.1; 0.2], 3 сутки – Ме 0.1 [0.1; 0.1], 7 сутки – Ме 0.1 [0.0; 0.1] и увеличение ширины распределения эритроцитов 1 сутки – Ме 14.6 [13.3; 15.4], 3 сутки – Ме 15.2 [14.4; 16.3], 7 сутки – Ме 16.9 [15.8; 17.9] и относительной ширины распределения тромбоцитов по объему 1 сутки – Ме 44.4 [37.3; 49.7], 3 сутки – Ме 48.6 [42.5; 51.5], 7 сутки – Ме 49.6 [41.1; 55.2].

Таблица 9. Динамика показателей общего анализа крови.

Характеристика	1 сутки N = 55	3 сутки N = 45	7 сутки N = 36	р
HGB				<0,0001
<i>Среднее (СтО)</i>	113,8 (20,4)	100,9 (14,2)	94,2 (12,9)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	115,0 [99,5;128,0]	101,0 [92,0;109,0]	95,0 [86,8; 103,0]	
RBC				<0,0001
<i>Среднее (СтО)</i>	3,8 (0,7)	3,4 (0,4)	3,2 (0,4)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	3,8 [3,3; 4,3]	3,4 [3,1; 3,7]	3,3 [2,9; 3,4]	
HCT, %				<0,0001
<i>Среднее (СтО)</i>	34,6 (6,3)	30,7 (4,5)	29,0 (3,9)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	34,0 [29,7; 38,6]	30,6 [28,5; 34,0]	29,0 [26,7; 31,6]	
RDW				<0,0001
<i>Среднее (СтО)</i>	14,3 (1,8)	15,1 (1,9)	16,5 (2,3)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	14,6 [13,3; 15,4]	15,2 [14,4; 16,3]	16,9 [15,8; 17,9]	
MCV				0,7781
<i>Среднее (СтО)</i>	90,7 (5,0)	90,5 (3,8)	91,2 (3,7)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	90,4 [87,1; 94,3]	90,7 [88,3; 93,3]	92,1 [89,2; 93,5]	
MCH				0,8979
<i>Среднее (СтО)</i>	29,8 (1,5)	29,7 (1,5)	29,6 (1,3)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	29,7 [28,8; 30,9]	29,7 [28,9; 30,5]	29,7 [28,7; 30,4]	
нейтрофилы %				0,0395
<i>Среднее (СтО)</i>	88,3 (6,6)	87,8 (5,3)	84,7 (8,9)	
<i>Медиана [ИКР]</i>	89,5 [86,1; 92,6]	88,3 [84,6; 91,1]	86,8 [82,0; 89,5]	
моноциты %				0,2527
<i>Среднее (СтО)</i>	4,5 (2,1)	4,3 (2,1)	5,4 (3,0)	

Продолжение таблицы 9

Медиана [ИКР]	4,0 [3,2; 5,6]	3,7 [3,0; 5,2]	5,0 [3,2; 6,8]	
нейтр. абс.				0,8586
Среднее (СтО)	13,1 (7,3)	12,6 (7,3)	12,0 (6,3)	
Медиана [ИКР]	12,8 [7,8; 17,7]	11,3 [7,7; 16,0]	11,6 [6,6; 16,1]	
эозин. абс.				0,1154
Среднее (СтО)	0,1 (0,1)	0,1 (0,2)	0,1 (0,2)	
Медиана [ИКР]	0,0 [0,0; 0,1]	0,1 [0,0; 0,2]	0,1 [0,0; 0,2]	
лимф. абс.				0,3539
Среднее (СтО)	0,7 (0,7)	0,7 (0,5)	0,7 (0,5)	
Медиана [ИКР]	0,5 [0,3; 0,9]	0,5 [0,3; 0,9]	0,7 [0,4; 0,9]	
Мон. абс.				0,4182
Среднее (СтО)	0,6 (0,4)	0,6 (0,4)	0,8 (0,8)	
Медиана [ИКР]	0,6 [0,3; 0,8]	0,5 [0,3; 0,8]	0,7 [0,4; 0,9]	
тромбоциты				<0,0001
Среднее (СтО)	164,9 (78,5)	106,1 (61,3)	81,4 (47,1)	
Медиана [ИКР]	149,0 [104,0;226,0]	96,0 [65,0; 138,0]	82,5 [40,2; 102,8]	
MPV				0,7428
Среднее (СтО)	10,5 (1,9)	10,6 (1,6)	10,7 (2,0)	
Медиана [ИКР]	10,7 [9,5; 11,4]	10,8 [9,8; 11,4]	10,9 [9,8; 11,8]	
PDW				0,0140
Среднее (СтО)	39,9 (14,2)	45,1 (13,6)	44,7 (15,6)	
Медиана [ИКР]	44,4 [37,3; 49,7]	48,6 [42,5; 51,5]	49,6 [41,1; 55,2]	
PCT				<0,0001
Среднее (СтО)	0,2 (0,1)	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)	
Медиана [ИКР]	0,2 [0,1; 0,2]	0,1 [0,1; 0,1]	0,1 [0,0; 0,1]	

Примечание: абс. – абсолютное значение, HGB – гемоглобин, RBC – эритроциты, HCT – гематокрит, RDW – ширина распределения эритроцитов, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MPV – средний объем тромбоцита, PDW – ширина распределения тромбоцитов по объему, PCT – тромбокрит, СтО – стандартное отклонение, ИКР –

межквартильный диапазон, p – уровень значимости различий.

Таким образом, помимо эффектов гемодилюции, характерной для пациентов на ЭКМО, наблюдались признаки разрушения эритроцитов и тромбоцитов, выражающиеся в возрастании их ширины распределения, что провоцировалось несколькими факторами, такими как коронавирусная инфекция, вторичная бактериальная инфекция, работа центрифужного насоса, высокое давление сдвига, контакт с неэндотелизированной поверхностью магистралей экстракорпорального контура.

В свою очередь, RDW – ширина распределения эритроцитов по данным литературы [125] является предиктором неблагоприятных исходов течения COVID-19. Так в исследовании Soni с соавт. [145] повышение было ассоциировано с повышенным риском летального исхода [ОШ = 4,5; 95% ДИ 1.4-14.3]. Однако, стоит отметить, что при увеличении степени гемодилюции с 34.0 % Me [29.7; 38.6] в 1 сутки до 29.0 % Me [26.7; 31.6] на 7 сутки ($p < 0,001$), позволяющей при проведении ЭКМО уменьшить травматизацию форменных элементов крови экстракорпоральным контуром, ширина распределения как эритроцитов, так и тромбоцитов продолжала нарастать, что говорит об инфекционном генезе повреждения клеток крови.

Для того чтобы проследить взаимосвязь воспалительного ответа с повреждением эндотелия была оценена корреляция маркеров воспалительного ответа с маркерами повреждения эндотелия (таблица 10).

Таблица 10. Корреляция маркеров повреждения эндотелия и маркеров воспалительного ответа (метод Спирмена).

Показатель	Сутки	СРБ	лейк.	Ne/Ly	Tr/Ly	TrNe/Ly
NOx	1 сутки	0,28 [0,02; 0,51] p=0,0360	-0,02 [-0,29; 0,24] p=0,8651	-0,19 [-0,43; 0,08] p=0,1705	-0,21 [-0,45; 0,06] p=0,1291	-0,19 [-0,43; 0,08] p=0,1610
	3 сутки	0,25 [-0,05; 0,51] p=0,0986	0,03 [-0,27; 0,32] p=0,8545	-0,07 [-0,35; 0,23] p=0,6669	-0,22 [-0,48; 0,08] p=0,1422	-0,24 [-0,50; 0,05] p=0,1051

Продолжение таблицы 10

	7 сутки	0,16 [-0,18; 0,46] p=0,3622	-0,08 [-0,40; 0,25] p=0,6222	-0,31 [-0,58; 0,02] p=0,0640	-0,45 [-0,68; -0,15] p=0,0059	-0,41 [-0,65; -0,09] p=0,0146
АСЕ	1 сутки	-0,15 [-0,41; 0,12] p=0,2699	-0,03 [-0,30; 0,24] p=0,8446	-0,06 [-0,33; 0,21] p=0,6546	0,04 [-0,24; 0,30] p=0,7889	0,05 [-0,22; 0,32] p=0,7096
	3 сутки	-0,05 [-0,34; 0,25] p=0,7444	-0,19 [-0,46; 0,11] p=0,2104	0,02 [-0,27; 0,31] p=0,8907	0,10 [-0,20; 0,38] p=0,5153	-0,03 [-0,32; 0,26] p=0,8212
	7 сутки	-0,22 [-0,51; 0,12] p=0,2001	0,19 [-0,15; 0,49] p=0,2658	0,22 [-0,12; 0,51] p=0,2025	-0,01 [-0,34; 0,32] p=0,9649	0,12 [-0,22; 0,43] p=0,4944
NO _x /АСЕ	1 сутки	0,29 [0,03; 0,52] p=0,0323	-0,03 [-0,30; 0,24] p=0,8266	-0,05 [-0,32; 0,22] p=0,6967	-0,14 [-0,40; 0,13] p=0,3126	-0,16 [-0,41; 0,12] p=0,2591
	3 сутки	0,29 [-0,00; 0,54] p=0,0511	0,14 [-0,16; 0,41] p=0,3757	-0,04 [-0,33; 0,25] p=0,7823	-0,30 [-0,54; -0,00] p=0,0475	-0,24 [-0,50; 0,06] p=0,1176
	7 сутки	0,25 [-0,09; 0,53] p=0,1484	-0,16 [-0,47; 0,18] p=0,3455	-0,33 [-0,59; 0,00] p=0,0506	-0,32 [-0,58; 0,01] p=0,0596	-0,34 [-0,60; -0,01] p=0,0435

Примечание: СРБ – С-реактивный белок, лейкоц. – лейкоциты, Ne/Ly – отношение Нейтрофилы/Лимфоциты, Tr/Ly – отношение Тромбоциты/Лимфоциты, TrNe/Ly – отношение Тромбоциты x Нейтрофилы/Лимфоциты, p – уровень значимости различий.

Была выявлена статистически значимая слабая положительная корреляция концентрация С- реактивного белка и оксида азота (рисунок 11) на 1 сутки: R=0,28 [95% ДИ 0,02-0,51], p=0,036, n=52. Иными словами, интенсивность воспалительного процесса увеличивалась пропорционально увеличению NO – маркера повреждения эндотелия [9].

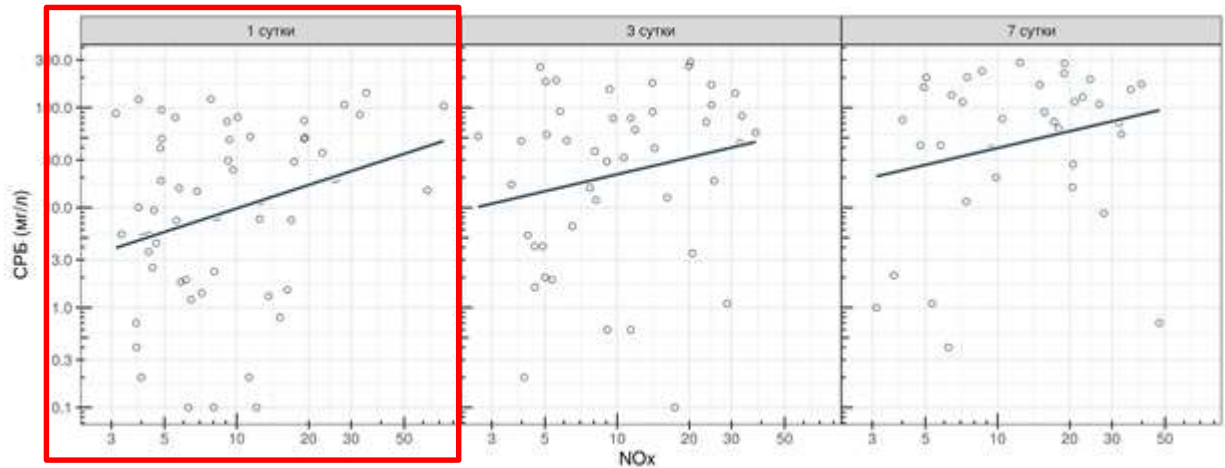


Рисунок 11. Корреляция концентрации оксида азота и С-реактивного белка.

Статистически значимая отрицательная корреляция концентрации оксида азота и соотношения Тромбоциты/Лимфоциты (рисунок 12) была отмечена на 7 сутки: $R = -0.45$ [95% ДИ $-0,68; -0,15$], $p=0,0059$, $n=49$.

Соотношение согласно данным литературы, может использоваться как независимый прогностический маркер тяжести заболевания при COVID-19; при этом более высокие уровни соотношения наблюдались у пациентов с тяжелым заболеванием по сравнению с нетяжелым течением [32, 34].

Оксид азота, являясь медиатором эндотелий-зависимой вазодилатации, ингибирует такие вазоконстрикторы, как ангиотензин II и эндотелин, помогает защитить ткани от повреждений из-за низкого кровоснабжения; сосудорасширяющее действие оксида азота играет ключевую роль в почечном контроле гомеостаза внеклеточной жидкости. Оксид азота способствует регуляции сократимости сердца, тормозит агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов, инфильтрацию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, препятствует окислительной модификации липопротеинов низкой плотности; то есть проявляет протективные свойства в пределах референсных значений. В условиях окислительного стресса выработка и функция NO нарушается, снижается его протективное воздействие.

Отрицательная средней силы корреляция оксида азота с соотношением тромбоциты/лимфоциты означает, что низким значениям оксида азота

соответствуют более высокие показатели соотношения тромбоциты/лимфоциты, то есть снижение протективной функции оксида азота ассоциировалось с более тяжелым течением коронавирусного заболевания, что соответствует данным литературы [70, 124, 135].

Выявление данной корреляции у пациентов с ЭКМО на 7ые сутки может указывать на возрастающую роль ЭКМО в этот период для подавления оксидативного стресса и поддержания протективной функции оксида азота.

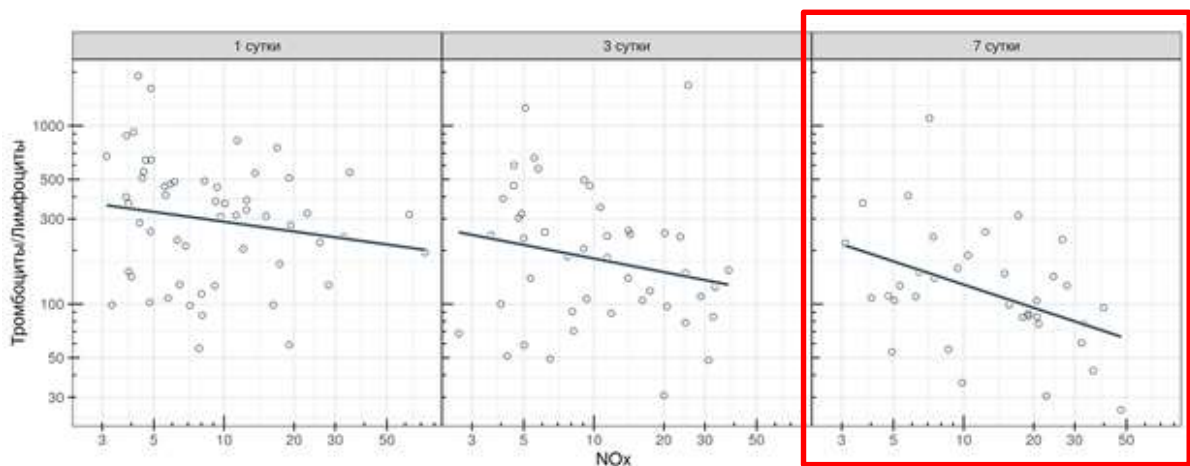


Рисунок 12. Корреляция концентрации оксида азота и соотношения Тромбоциты/Лимфоциты.

Статистически значимая отрицательная корреляция концентрации оксида азота и соотношения Тромбоциты x Нейтрофилы/Лимфоциты (рисунок 13) была отмечена на 7 сутки: $R = -0.41$ [95% ДИ $-0,65; -0,09$], $p=0,0146$, $n=49$.

Соотношение Тромбоциты x Нейтрофилы/Лимфоциты, также известное в литературе как системный иммуно-воспалительный индекс, описывается как один из самых значимых и прогностически важных маркеров тяжести течения COVID-19 [57].

Отрицательная корреляция оксида азота с системным иммуно-воспалительным индексом означает, что низким значениям оксида азота соответствуют более высокие значения соотношения Тромбоциты x Нейтрофилы/Лимфоциты, то есть снижение протективной функции оксида азота ассоциировалось с менее благоприятными исходами [32, 70, 124, 170].

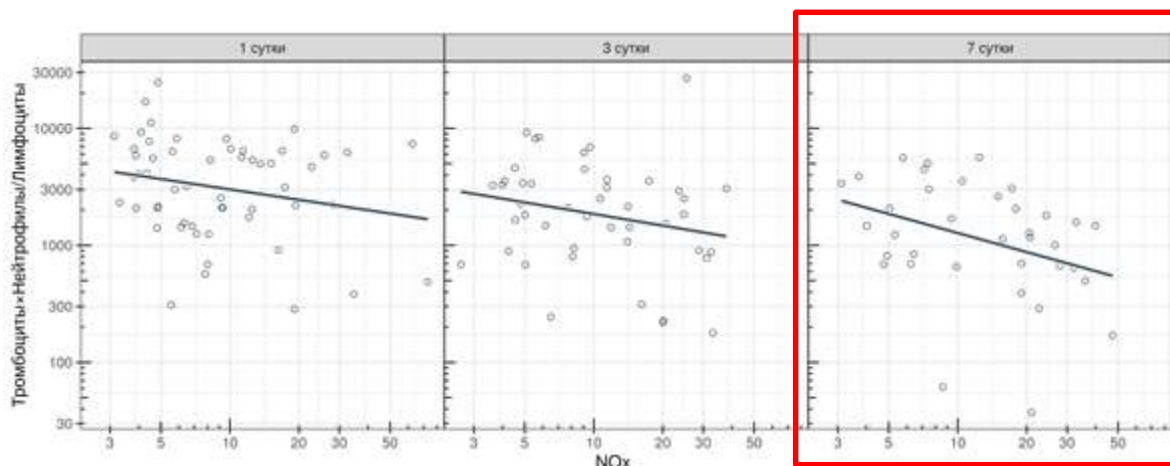


Рисунок 13. Корреляция концентрации оксида азота и соотношения Тромбоциты×Нейтрофилы/Лимфоциты.

На этапе крайне тяжелого течения заболевания, в первые 7 суток наблюдения с момента начала работы контура экстракорпоральной мембранной оксигенации было отмечено отсутствие прогрессирования окислительного стресса при сохраняющихся высоких значениях малонового диальдегида и нарастании дисфункции эндотелия, что говорит об увеличении рисков тромбозов и кровотечений.

Активность воспалительного процесса продолжала нарастать при снижении уровня маркеров тяжести течения COVID-19, а динамика гематологических показателей свидетельствовала о развивающемся инфекционном процессе, повреждающем форменные элементы крови.

Причиной тому могла служить как активация системного воспалительного ответа в результате контакта крови с неэндотелизированной поверхностью магистралей ЭКМО, давлением сдвига на разных участках контура и механическим разрушением форменных элементов подвижной частью центрифужного насоса, так и присоединение вторичной бактериальной инфекции.

3.3 Роль антитромбина-III при COVID-19 в условиях ЭКМО

Контроль активности антитромбина-III (АТ-III) при проведении ЭКМО с

использованием нефракционированного гепарина является предметом изучения на сегодняшний день. Актуальных рекомендаций в отношении применения концентрата антитромбина-III для пациентов с COVID-19 на сегодняшний день не выработано, однако по данным литературы он находит применение все чаще [75, 94, 123, 167].

В настоящем исследовании у 50 пациентов на фоне проведения ЭКМО вводились препараты АТ-III, в 50 случаях АТ-III не вводился. В таблице 11 представлены среднесуточные данные коагуляционного статуса крови, маркеров эндотелиальной дисфункции и оксидативного статуса. Для выявления межгрупповых различий использовался метод смешанных линейных и смешанных обобщенных линейных моделей (GEE, Generalized Linear Model); рассчитанные коэффициенты Δ – градиент изменения или FC – кратность изменения представлены в таблице 11. Отрицательное значение коэффициента Δ указывает на ежесуточное среднее снижение величины исследуемого параметра на соответствующее число единиц измерения параметра, положительное значение – на ежесуточное возрастание. Значение коэффициента FC больше единицы указывает на ежесуточное повышение параметра в указанное число раз, соответствующее величине коэффициента FC; значение меньше единицы – на снижение, например в 0,8 раза.

Представленные параметры пациентов этих двух групп не имели статистически значимых различий за исключением различия по антитромбину-III и уровню тромбоцитов. В группе с применением препаратов активность АТ-III была в среднем в каждые наблюдаемые сутки закономерно на 23% выше по сравнению с пациентами, не получавшими препарат ($p=0,0001$). Препарат АТ-III вводился пациентам с более грубой тромбоцитопенией, среднесуточный уровень которой был ниже на 29 тыс. кл/мкл по сравнению с пациентами другой группы ($p=0,0189$). Статистически значимо и незначительно (клинически незначимо) различалось протромбиновое время ($p=0,0345$), однако протромбин по Квику и МНО статистически не различались.

Таблица 11. Показатели коагуляционного статуса крови, маркеров эндотелиальной дисфункции и оксидативного статуса в группах с применением антитромбина-III и без его применения.

Показатель	АТ-III не применялся n=50 Среднее (СтО) Медиана [ИКР]	АТ-III применялся n=50 Среднее (СтО) Медиана [ИКР]	Δ/FC [95% ДИ]	p
Гепарин, МЕ/кг/час [Δ]	8,6 (5,2); 6,2 [5,3; 11,6]	8,1 (4,9); 6,0 [5,0; 10,0]	-1,31 [-2,76; 0,13]	0,0753
АЧТВ, сек [Δ]	65 (50); 44 [32; 74]	60 (46); 40 [31; 66]	-4,61 [-13,13; 3,92]	0,2893
Антитромбин-III, [Δ]	64 (21); 71 [52; 77]	88 (25); 87 [74; 101]	23,37 [11,41; 35,33]	0,0001
Тромбоциты x10 ⁹ [Δ]	146 (96); 126 [66; 216]	107 (66); 95 [61; 136]	-29,05 [-53,30; - 4,79]	0,0189
Протромбин, % [FC]	72 (23); 73 [58; 85]	75 (36); 74 [59; 89]	1,10 [0,96; 1,27]	0,1795
МНО [FC]	1,43 (0,94); 1,20 [1,10; 1,40]	1,32 (0,83); 1,17 [1,07; 1,35]	0,91 [0,82; 1,00]	0,0535
ПВ, сек [FC]	16,4 (7,7); 14,0 [13,0; 16,0]	15,0 (4,4); 14,0 [12,0; 16,0]	0,90 [0,82; 0,99]	0,0345
Тромбин. время., сек. [Δ]	94 (77); 43 [22; 180]	88 (76); 37 [19; 180]	-4,34 [-20,70; 12,03]	0,6034
Фибриноген, г/л [Δ]	3,13 (1,76); 2,88 [1,79; 4,40]	2,78 (1,57); 2,59 [1,76; 3,60]	1,07 [0,83; 1,38]	0,5923
СТ-Геп [Δ]	247 (77); 278 [179; 297]	217 (50); 214 [178; 249]	-51,93 [-105,81; 1,95]	0,0589
СFT-Геп [FC]	289 (205); 228 [114; 403]	232 (248); 133 [108; 266]	0,69 [0,24; 1,96]	0,4868

Продолжение таблицы 11

МСФ-ГеП [Δ]	46 (14); 47 [33; 56]	49 (12); 52 [40; 57]	1,28 [-11,29; 13,84]	0,8423
МСЕ-ГеП [Δ]	110 (52); 103 [63; 144]	110 (52); 112 [67; 141]	0,28 [-51,06; 51,63]	0,9914
СТ-Инт [FC]	476 (712); 238 [173; 288]	374 (593); 237 [210; 318]	0,98 [0,65; 1,48]	0,9354
СТФ-Инт [FC]	171 (137); 110 [68; 258]	230 (287); 142 [111; 212]	1,40 [0,73; 2,70]	0,3095
МСФ-Инт [Δ]	57 (13); 60 [50; 67]	53 (13); 56 [46; 62]	-4,25 [-12,92; 4,42]	0,3370
МСЕ-И [Δ]	150 (71); 149 [99; 204]	132 (68); 127 [83; 160]	-19,95 [-62,32; 22,41]	0,3560
СТ-Экст [FC]	167 (409); 80 [70; 108]	92 (33); 84 [71; 103]	0,83 [0,59; 1,16]	0,2714
СФТ-Экст [FC]	201 (246); 108 [75; 238]	185 (148); 140 [108; 201]	1,14 [0,62; 2,09]	0,6732
МСФ-Экст [Δ]	56 (13); 58 [47; 68]	54 (12); 55 [44; 62]	-3,17 [-11,12; 4,77]	0,4340
МСЕ-Экст [Δ]	147 (71); 138 [87; 209]	127 (57); 121 [80; 156]	-24,93 [-62,44; 12,58]	0,1927
СТ-Фиб [FC]	187 (424); 78 [62; 112]	89 (36); 81 [67; 98]	0,77 [0,53; 1,12]	0,1728
МСФ-Фиб [Δ]	18 (9); 17 [11; 25]	15 (6); 14 [10; 18]	-2,96 [-7,67; 1,74]	0,2171
Нох, мкмоль/л [Δ]	14 (10); 10 [7; 20]	12 (10); 8 [5; 17]	0,41 [-5,03; 5,84]	0,8835
МДА, нмоль/л [Δ]	3,72 (0,75); 3,65 [3,19; 4,22]	4,03 (0,92); 3,87 [3,41; 4,40]	0,30 [-0,11; 0,71]	0,1571
АСЕ, ед [Δ]	28 (15); 24 [16; 36]	36 (22); 29 [19; 51]	8,88 [-0,56; 18,31]	0,0651

Продолжение таблицы 11

TAS, ммоль/л [Δ]	1,39 (0,79); 1,44 [0,64; 1,74]	1,49 (0,62); 1,49 [1,15; 1,80]	0,10 [-0,23; 0,44]	0,5418
---------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	--------------------	--------

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, МНО – международное нормализованное отношение, ПВ – протромбиновое время, СТ – время свертывания, MCF – максимальная плотность сгустка, MCE – максимальная эластичность сгустка, CFT – время образования сгустка, Инт – тест активации внутреннего пути свертывания, Экст – тест активации внешнего пути свертывания, Фиб – тест вклада фибриногена в плотность сгустка, Геп – тест с гепариназой на наличие свободного гепарина, NOx – оксид азота, ACE – ангиотензинпревращающий фермент, MDA – малоновый диальдегид, TAS – общий антиоксидантный статус, СтО – стандартное отклонение, ИКР – межквартильный диапазон, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, p – уровень значимости различий.

В обеих группах был проведен анализ частоты тромбгеморрагических осложнений в группе с использованием препаратов антитромбина-III и в группе, где препарат не применялся. В группе с применением антитромбина-III за наблюдаемый 7-суточный период произошел 21 эпизод кровотечения и 34 эпизодов тромбозов; в другой группе таких эпизодов произошло соответственно 28 и 42. Следует отметить, что среди всех наблюдений (100 человек) у 14% пациентов эпизоды тромбозов отмечались дважды (различной локализации), а у 2% – трижды; два эпизода кровотечений за наблюдаемый период произошли у 7% больных (таблица 12).

Для сравнительной межгрупповой оценки частоты тромбгеморрагических осложнений, с учетом множественного характера последних у части пациентов, были применены обобщенные смешанные модели (Generalized Linear Model (GEE)), позволявшие учитывать наличие нескольких событий у одного пациента. Применение препаратов АТ-III в лечении тяжелой коронавирусной инфекции на

фоне проведения ЭКМО снижало шанс развития тромбозов в 0,450 раза 95%ДИ [0,448; 0,451] на высоком уровне значимости $p < 0,0001$, а шанс развития кровотечений – в 0,578 раза 95%ДИ [0,330; 1,012] на недостаточном уровне значимости $p = 0,0551$ (95%-й доверительный интервал имеет переход через единицу). Однако и последний результат следует принять во внимание, несмотря на недостаточную мощность сравнения, ввиду его высокой клинической значимости (таблица 12). Таким образом, вероятность развития тромбоза без применения в лечении АТ-III была в 2,22 раза выше по сравнению с вероятностью избежать тромбоза в случае применения концентрата антитромбина-III, а вероятность кровотечения без АТ- III была в 1,73 раза выше; хотя последний результат значительно менее значимый.

Таблица 12. Сравнение рисков тромбозов и кровотечений в группах с антитромбином-III и без.

Событие	Сравнение	ОШ [95% ДИ]	p
Тромбоз	Группа с АТ / группа без АТ	0,450 [0,448; 0,451]	<0,0001
Кровотечение	Группа с АТ / группа без АТ	0,578 [0,330; 1,012]	0,0551

Примечание: ДИ – доверительный интервал, ОШ – отношение шансов, p – уровень значимости различий.

На основе построенных моделей была определена оптимальная точка отсечения активности антитромбина-III в крови, составившая 82,5% (таблица 13). То есть при активности антитромбина-III в крови выше 82,5% вероятность избежать тромбоз составила 72,2%, а вероятность избежать кровотечения – 81,8% (чувствительность). Вероятность же развития тромбоза при более низкой активности антитромбина-III (ниже 82,5%) составила 56,9%, а кровотечения – 56,3% (специфичность).

Таблица 13. Пороговые значения активности антитромбина-III.

Предиктор	Исход	Порог	Специфичность	Чувствительность
антитромбин-III	Тромбоз	82,5	56,9 [50,7-61,1]	72,2 [66,7-78,2]
	Кровотечение	82,5	56,3 [50,3-60,5]	81,8 [75,2-86,7]

Таким образом, применение препаратов антитромбина-III при тяжелой коронавирусной инфекции у пациентов с некомпенсируемой гипоксемией, нуждавшихся в проведении ЭКМО, существенно снижало вероятность развития как тромбозов, так и кровотечений.

Проблема оптимизации баланса свертывающей и противосвертывающей систем крови при тяжелом течении коронавирусной инфекции, некомпенсируемой гипоксемии и необходимости проведения ЭКМО очень сложна. Оптимальный баланс мог бы позволить избегать тромбогеморрагических осложнений или существенно снизить их уровень.

Сложность оптимизации состояния гемостаза обусловлена многофакторным воздействием. Во-первых, сама новая коронавирусная болезнь ассоциирована с повышенным риском тромбообразования и требует антикоагулянтной терапии даже без использования экстракорпоральных методов лечения [26]. По нашим наблюдениям и по данным литературы при проведении ЭКМО у больных с COVID-19 гораздо чаще происходил тромбоз экстракорпорального контура со снижением функции оксигенатора и увеличением градиентов давления внутри контура. Тогда как предыдущая практика применения веновенозного ЭКМО у пациентов с другой нозологией, без COVID-19, позволяла использовать оксигенатор значительно дольше [30]. Тяжелое течение инфекции COVID-19, при котором возникает необходимость в проведении ЭКМО, системная гипервоспалительная реакция организма, цитокиновый шторм вели к снижению активности антитромбина-III и другим расстройствам гемостаза.

Во-вторых, методика проведения ЭКМО требует гепаринизации для обеспечения циркуляции в экстракорпоральном контуре, то есть вмешивается в гемостаз. Кроме того, контакт крови с экстракорпоральным контуром

сопровождается снижением уровня белков плазмы, в том числе – отвечающих за коагуляцию, таких как антитромбин-III, фибриноген, фактор Виллебранда [26,103].

В свою очередь снижение активности антитромбина-III ассоциировано со снижением антикоагулянтной эффективности гепарина, формированием гепарин-резистентности и, как следствие, ведет к избыточной гепаринизации при проведении ЭКМО [123].

Большинство перечисленных факторов связано со снижением эндогенной активности антитромбина-III, что и явилось обоснованием для применения его препаратов в лечении. И был получен достаточно обнадеживающий позитивный результат.

Ниже приведено клиническое наблюдение, демонстрирующее тактику и результат использования препарата антитромбина-III у пациента с COVID-19 на ЭКМО.

Клинический пример

Больной 46 лет был переведен в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского из другого стационара 16.01.2021г. на 25-й день от начала заболевания с диагнозом направления: коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, внебольничная полисегментарная пневмония, острая дыхательная недостаточность гипоксического типа. В анамнезе резекция верхней доли левого легкого.

При поступлении в стационар состояние пациента расценено как крайне тяжелое. Тяжесть была обусловлена тяжелой дыхательной недостаточностью на фоне прогрессирующей пневмонии, не поддающейся компенсации проводимой искусственной вентиляцией легких в режиме А/С(IPPV) с управляемым объемом, FiO₂ 100%, ПДКВ 10 см вод.ст., SpO₂ 88%, интоксикацией, развивающейся полиорганной недостаточностью.

В день поступления выполнена компьютерная томография (КТ), по заключению которой выявлены КТ-признаки инфильтративно-воспалительных изменений обоих легких тяжелой степени тяжести (КТ-3, правое легкое – 50-75%, левое легкое – 25–50%), двустороннего гидроторакса, невыраженной

внутригрудной лимфаденопатии.

Проведена санационная трахеобронхоскопия, выявлен эрозивный слизистогнойный трахеобронхит с геморрагическим компонентом.

Одновременно выполнено исследование на антитела к SARS-COV-2: IgM 01,78, IgG 387,91 и исследование полимеразной цепной реакции (ПЦР): обнаружена РНК SARS-COV-2.

По результатам ультразвукового исследования: ЭХО-признаков тромбоза на визуализируемых венах нижних конечностей не выявлено, обнаружены ЭХО-признаки окклюзионного тромбоза подкожных вен обеих верхних конечностей.

В период с 17.01.2021 по 23.01.2021 состояние характеризовалось как крайне тяжелое, без существенной динамики. В соответствии с результатами лабораторных исследований проводилась коррекция антибактериальной терапии. Медикаментозная седация была прекращена, больной находился в ясном сознании.

24.01.2021 отмечена отрицательная динамика, заключающаяся в нарастании дыхательного ацидоза и значительном снижении SpO₂. Уровень сознания – поверхностное оглушение. Декомпенсация дыхательной недостаточности явилась показанием для осуществления веновенозного периферического ЭКМО (в соответствии с временными методическими рекомендациями министерства здравоохранения РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» от 26.10.2020: снижение индекса PaO₂/FiO₂ ниже 80 мм рт.ст. и (или) гиперкапния с pH < 7,2, несмотря на протективную ИВЛ в прон-позиции в течение 10-12 ч., при показателях PaO₂ 45 мм.рт.ст, PaCO₂ 115 мм.рт.ст., FiO₂ 100%, pH 7,15 ПДКВ 10 мм.рт.ст., ДО 300 мл, SpO₂ 75%).

Выполнена канюляция через бедренную вену справа и яремную вену справа канюлями 24 Fr и 18 Fr соответственно. На момент начала процедуры ЭКМО установлены следующие параметры поддержки – 4 л/мин объемной скорости потока крови и 7 л/мин потока 100% кислорода в оксигенатор. Лабораторные показатели газового состава артериальной крови определили на уровне – pO₂ 64 мм.рт.ст., paCO₂ 37 мм рт.ст. SpO₂ составила 95% при фракции рециркуляции

ЭКМО менее 15%.

Установлен PICCO мониторинг – PCCI 4.5, SVV 8%, ELWI 14, SVRI 1500, GEF 28%. Гемодинамика стабильна, без вазотропной поддержки. Сознание ясное. Проводилась заместительная почечная терапия, респираторная поддержка, В-В ЭКМО, динамический мониторинг с симптоматической терапией, процедуры профилактики тромбозов и инфекционных осложнений, антибактериальная терапия.

В период с 26.01.2021 по 30.01.2021 состояние пациента сохраняется стабильным.

31.01.2021 наблюдается потребность в прогрессивном увеличении FiO_2 на аппарате ИВЛ, в ходе планового профилактического осмотра контура ЭКМО, зарегистрировали нарушение функции мембраны оксигенатора в связи с его тромбозом, произведена замена сета.

С 01.02.2021 состояние оценивается как крайне тяжелое, стабильное. Степень респираторной поддержки прогрессивно снижается в соответствии с возможностями пациента, проводится антикоагулянтная терапия гепарином натрия (таблица 14), антибактериальная и симптоматическая терапия, постепенная активизация пациента.

08.02.2021г. отмечается необходимость в увеличении гепаринизации, сопровождающаяся повышением объема геморрагического компонента в отделяемом из дыхательных путей при санации. По результатам лабораторных данных уровень активности антитромбина-III составил 67%. При проведении расчета по формуле: Необходимая доза (МЕ) = масса тела (кг) × (целевой уровень – исходный уровень активности [%]) × 0.5 антитромбин-III был назначен в объеме 1000МЕ. До момента отключения ЭКМО концентрат антитромбина вводился из расчета целевой активности в 100%.

Таблица 14. Динамика показателей коагулограммы и дозировок гепарина натрия.

Показатель	Единицы измерения	Референсные значения	Дата/день ЭКМО															
			24.01/1	25.01/2	26.01/3	27.01/4	28.01/5	29.01/6	30.01/7	31.01/8	01.02/9	02.02/10	03.02.11	04.02/12	05.02/13	06.02/14	07.02/15	
			День болезни															
			32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	
АЧТВ	сек	25,4 – 38,4	60,6	159,9	53,4	38	29,6	44,6	29,3	44	50	37,1	42,6	33,3	39,9	34,9	35,0	
Протромбин	%	70 – 130	62,5	53	77	87	57,6	100	97	68,7	100	83	73	61		91		
МНО		0,80 – 1,20	1,32	1,62	1,20	1,11	1,60	1,00	1,02	1,23	1,00	1,14	1,25	1,44		1,07		
ПВ	сек	9 – 13		19	14	13			12	12		12	13	15	17		13	
Фибриноген	г/л	2,0 – 3,93	2,75	2,83	3,10	2,67	2,15	3,01	2,52	1,82	3,68	4,42	3,77	4,36		4,08		
АТ-III	%	75 – 125																
Гепарин	МЕ/час	–	1200	1100	600	750	1000	2500	700	800	800	1000	1500	1500	1000	750	750	

Продолжение таблицы 14

Показатель	Единицы измерения	Референсные значения	Дата/день ЭКМО														
			08.02/16	09.02/17	10.02/18	11.02/19	12.02/20	13.02/21	14.02/22	15.02/23	16.02/24	17.02/25	18.02/26	19.02/27	20.02/28	21.02/29	22.02/30
			День болезни														
			47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
АЧТВ	сек	25,4 – 38,4	41,6	29,9	30,3	30,0	40,0	47,7	39,9	35,3	36,6	31,0	113	33,3	34,4	44,5	56,5
Протромбин	%	70 – 130	101	72,9	88	95	93	79	68,1	89	72,3	66,4	44	65,0	77	70,4	44
МНО		0,80 – 1,20	0,99	1,31	1,10	1,04	1,05	1,19	1,38	1,09	1,32	1,42	1,55	1,23	1,13	1,34	1,55
ПВ	сек	9 – 13	12		13	12	12	14		13			18	14	13		18
Фибриноген	г/л	2,0 – 3,93	3,21	1,98	1,88	2,44	2,16	2,65	1,23	1,45	1,89	1,50	1,45	1,49	1,42	1,99	1,55
АТ-III	%	75 – 125	67		74					68			65				82
Гепарин	МЕ/час	–	1600	900	1500	1500	1500	1050	900	1400	1750	1000	1500	900	1000	900	900

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; МНО – международное нормализованное отношение; ПВ – протромбиновое время; АТ-III – антитромбин-III.

В период с 09.02.2021 по 13.02.2021 сохранялась тенденция к увеличению объема самостоятельного дыхания при снижении параметров респираторной поддержки как на ИВЛ, так и на ЭКМО. 14.02.2021 были начаты тренировки с кратковременным отключением подачи газа в оксигенатор, которые пациент переносил преимущественно без клинически выраженных изменений, до 22.02.2021, наблюдался рост P_{aCO_2} вплоть до 85 мм рт.ст., не сказывающийся на клинической картине. Активно проводилась активизация в пределах кровати, сеансы лечебной физкультуры.

22.02.2021 после успешного предварительного отключения подачи газа в оксигенатор более чем на 24 часа было принято решение об отключении ЭКМО.

Пациент успешно был отлучен от ЭКМО-поддержки на 30-й день процедуры. За время наблюдения была отмечена взаимосвязь эпизодов коагуляционных нарушений и уровня антитромбина-III, осложнений которых удалось избежать своевременным восполнением недостатка антитромбина-III.

В представленном клиническом наблюдении управление системой гемостаза и ее стабилизация во избежание развития жизнеугрожающих осложнений было бы невозможно без тщательного мониторинга, интерпретации полученных данных и своевременной коррекции антикоагулянтной терапии в сочетании с использованием концентрата антитромбина.

В представленном клиническом наблюдении применение концентрата антитромбина-III позволило избежать жизнеугрожающих тромбгеморрагических осложнений и при этом провести эффективную ЭКМО с восстановлением самостоятельного газообмена при лечении пациента с тяжелой формой COVID-19.

Таким образом, полученные данные позволяют говорить об эффективности применения концентрата антитромбина-III при использовании нефракционированного гепарина в качестве основного антикоагулянтного препарата при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации у пациентов с COVID-19, а поддержание активности антитромбина-III выше 82,5% ведет к снижению числа тромботических осложнений.

3.4 Антикоагулянтная терапия у пациентов с COVID-19, находящихся на ЭКМО

Пациентам в реанимационных отделениях с тяжелыми случаями COVID-19 достаточно часто требуются экстракорпоральные методы лечения, такие как ЭКМО и заместительная почечная терапия (ЗПТ) для возмещения частично или полностью утраченных органных функций [122, 144, 156]. Применение ЭКМО и ЗПТ приводит к избыточной стимуляции систем коагуляции вследствие контакта крови с разнообразными нефизиологичными поверхностями и, как следствие, тромбозам участков сосудистого русла или компонентов экстракорпоральных контуров [44, 78, 184], что может привести к прекращению работы данных вспомогательных систем. Следовательно, требуется адекватная антикоагулянтная терапия во время этих процедур, как правило, нефракционированным гепарином [44, 93]. Более того, повышенная склонность к тромбообразованию в сочетании с избыточным системным воспалительным ответом, наблюдаемая у пациентов с COVID-19, с учетом вышеизложенного, приводит к выводу о необходимости более интенсивной антикоагулянтной терапии [59, 156].

Применение гепарина является основной и самой доступной терапией COVID-ассоциированной коагулопатии [89]. В данной ситуации имеется целый ряд «точек приложения» гепарина. Помимо того, что гепарин является антикоагулянтом, в легких он снижает воспаление и тромбообразование, выраженность ОРДС, улучшает оксигенацию; в сердце уменьшает образование тромбов в коронарных артериях и полостях сердца, выраженность миокардиопатии и кардиальной дисфункции вследствие ишемической гипоксии субэндотелиального слоя; в остальных органах также уменьшает выраженность микрососудистой ишемии, полиорганной дисфункции, выраженность отека и капиллярной утечки [80, 93].

Мониторинг адекватности гепаринизации является ключевым элементом для сохранения шаткого баланса между кровотечением и тромбозом. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) отражает состояние

внутреннего пути свертывания и чаще всего берется в расчет [108, 129]. Так же подлежат измерению такие параметры как активированное время свертывания (АВС) и активность антитромбина-III (АТ-III) [75, 108].

Для определения оптимальной дозы нефракционированного гепарина (НГ), нами была оценена ее динамика на протяжении 7 дней наблюдения (таблица 15, рисунок 14).

Таблица 15. Динамика дозы нефракционированного гепарина.

Показатель	Δ/FC [95% ДИ]	p
Гепарин МЕ/кг/час [Δ]	0.04 [-0.27; 0.35]	0.5072

Примечание: ДИ – доверительный интервал, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, p – уровень значимости различий.

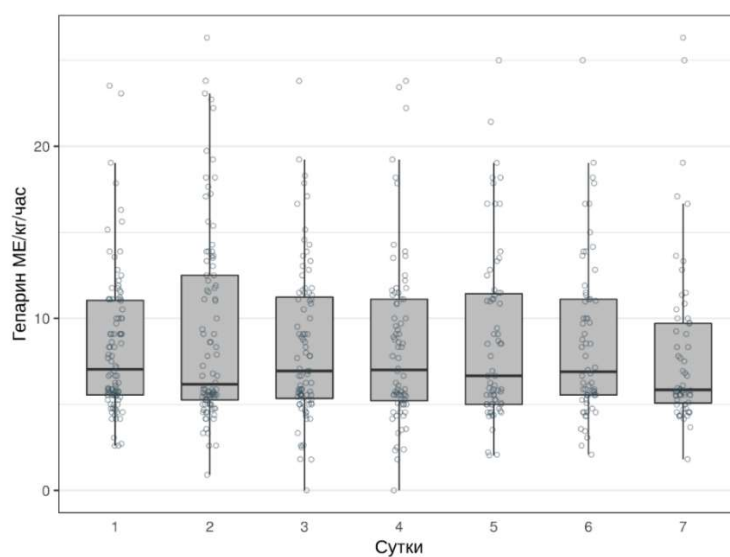


Рисунок 14. Динамика дозы нефракционированного гепарина.

На основе J-статистики Юдена без учета возможной нелинейности связи (GEE для бинарного исхода; интерпретация ОШ такая же, как и в обычной логистической регрессии) была рассчитана зависимость вероятности развития осложнений тромботического характера от дозы нефракционированного гепарина (рисунок 15, таблица 16). Так, при увеличении дозы гепарина на 1 МЕ/кг/час

вероятность тромбоза возрастала в 1,050 раза [95% ДИ 1.008- 1.094; $p < 0,0183$] с площадью под ROC-кривой 0,56 [95% ДИ 0,49-0,63]. Хотя значение $p < 0,0183$ статистически значимо, однако точность прогноза (OFC-Overall Fraction Correct, площадь под кривой) 0,56 – низкая; качество полученной модели низкое.

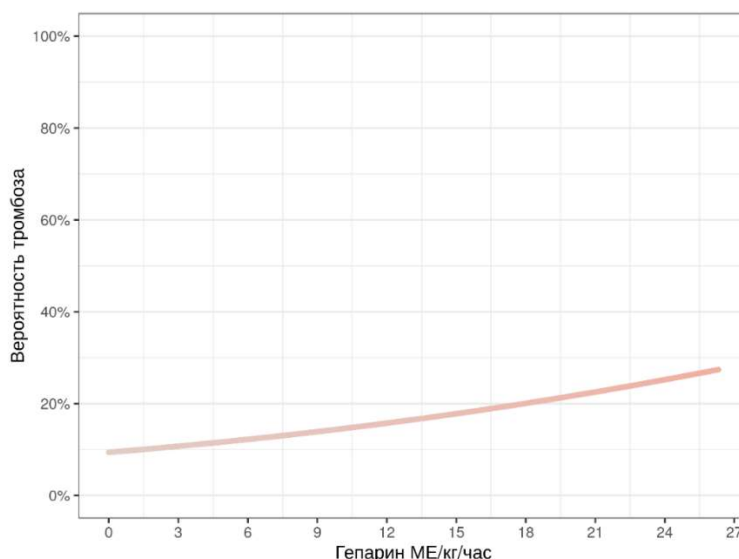


Рисунок 15. Вероятность развития тромбоза в зависимости от дозы нефракционированного гепарина.

Таблица 16. Вероятность развития тромбоза в зависимости от дозы нефракционированного гепарина.

Показатель	ОШ [95% ДИ]	p	AUC [95% ДИ]
Гепарин МЕ/кг/час (увеличение на 1)	1.050 [1.008; 1.094]	0.0183	0.56 [0.49; 0.63]

Примечание: ДИ – доверительный интервал, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, p – уровень значимости различий.

В свою очередь была оценена зависимость вероятности развития осложнения геморрагического характера от дозы нефракционированного гепарина (рисунок 16, таблица 17). Шанс развития кровотечения при увеличении дозы гепарина на 1 МЕ/кг/час возрастал в 1.048 раза [95% ДИ 0,984-1,115; $p < 0,1450$] с площадью под

ROC-кривой = 0.56 [95% ДИ 0,47-0,65].

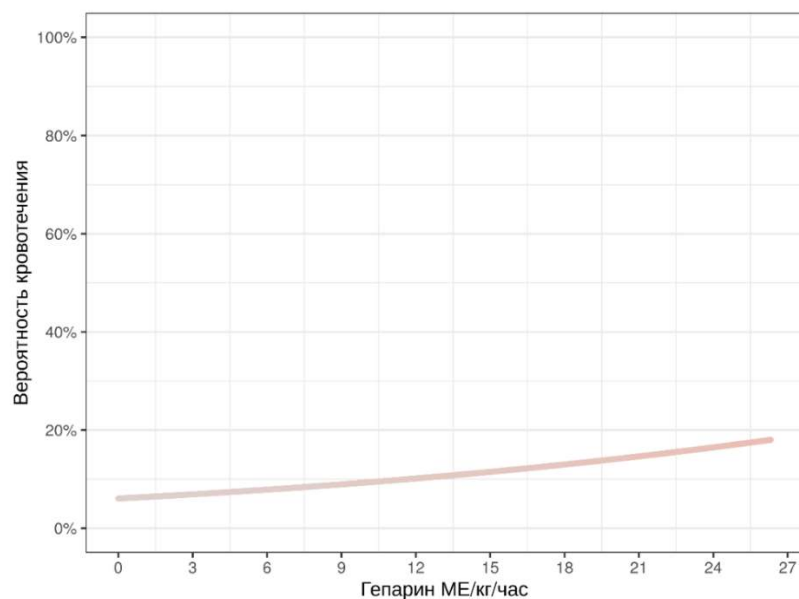


Рисунок 16. Вероятность развития кровотечения в зависимости от дозы нефракционированного гепарина.

Таблица 17. Вероятность развития кровотечения в зависимости от дозы нефракционированного гепарина.

Показатель	ОШ [95% ДИ]	p	AUC [95% ДИ]
Гепарин МЕ/кг/час (увеличение на 1)	1,048 [0,984; 1,115]	0,1450	0,56 [0,47; 0,65]

Примечание: ДИ – доверительный интервал, Δ – градиент изменения, FC – кратность изменения, p – уровень значимости различий.

На основании полученных данных были рассчитаны пороговые значения дозы гепарина в отношении шанса развития тромбоза со специфичностью 71,1% и чувствительностью 42%, а также кровотечения со специфичностью 51,2% и чувствительностью 61% (таблица 18). Так как модель для тромбоза все же имела уровень значимости $p=0,0183$, а значение специфичности для точки отсечения скорости введения гепарина 9,3 МЕ/кг/час составило 71,1%, то осторожно можно предположить, что при скорости введения гепарина меньше 9,3 МЕ/кг/час

возрастания вероятности тромбоза не ожидается с вероятностью 71,1%. Низкая чувствительность 42,0% предполагает, что увеличение скорости введения гепарина выше 9,3 МЕ/кг/час может вызвать возрастание вероятности тромбоза в 42% наблюдений. Результат можно рассматривать лишь как ориентировочный, мало значимый. Гипотезу, сформулированную на основе клинической практики, о том, что стандартные и рекомендуемые дозы нефракционированного гепарина при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19 являются избыточными и ведут к увеличению риска осложнений, статистически значимо доказать не удалось.

Таблица 18. Пороговые значения дозы нефракционированного гепарина.

Предиктор	Исход	Порог	Специфичность	Чувствительность
Гепарин МЕ/кг/час	Тромбоз	9,3	71,1	42,0
	Кровотечение	6,0	51,2	61,0

Опираясь на полученные данные, можно предположить, что стандартные и рекомендуемые дозы нефракционированного гепарина при проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19 являются избыточными и ведут к увеличению риска осложнений. Анализ результатов в отношении шансов развития тромбозов позволил определить точку отсечения дозы нефракционированного гепарина, что свидетельствует о целесообразности использования тактики сдержанной антикоагулянтной терапии, не превышая 9,3 МЕ/кг/час для снижения вероятности развития тромбозов.

ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И ЧАСТОТА ТРОМБОГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКМО У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Цель представленной диссертационной работы заключалась в улучшении результатов лечения пациентов с COVID-19 в условиях экстракорпоральной мембранной оксигенации посредством снижения числа характерных тромботических и геморрагических осложнений. Основываясь на данных литературы и результатах, полученных при проведении этого исследования, была определена оптимальная тактика коррекции изменений системы гемостаза, успешно внедренная в рутинную практику работы инфекционных отделений COVID-19 ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, позволившая значительно снизить риск осложнений.

В ходе исследования был проведен анализ частоты развития кровотечений и тромбозов с учетом их локализации. Исследование продолжалось в течение первых 7 суток проведения ЭКМО или меньше, в случаях, если ЭКМО прекращали раньше или наступал летальный исход. За этот период времени у 100 пациентов, вошедших в исследование, было зафиксировано 49 эпизодов геморрагических и 76 эпизодов тромботических осложнений (таблица 19).

Среди осложнений геморрагического характера чаще всего встречались кровотечения из верхних дыхательных путей (24,4%), кровоизлияния в плевральную полость (18,3%), внутричерепные кровотечения (14,2%), а также кровотечения из мест канюляции (12,2%). Наибольшая доля тромбозов приходилась на тромбозы вен нижних конечностей (53,9%), тромбозы различных сегментов экстракорпорального контура (11,8%), тромбоз эмболии легочной артерии (10,5%), тромбозы внутренней яремной вены (6,5%). Тяжесть осложнений как правило была обусловлена объемом кровоизлияния или гемодинамической значимостью тромбоза, тогда как локализация играла критическую роль лишь в случае внутричерепных кровоизлияний. В большинстве случаев, осложнения являлись как следствием, так и причиной нарастающих изменений в системе гемостаза, кумулятивно ухудшая состояние и прогноз.

Таблица 19. Распределение осложнений.

Локализация осложнения	Частота осложнений	
	n	Доля
Кровотечение из верхних дыхательных путей	12	24,4%
Кровоизлияние в плевральную полость	9	18,3%
Кровотечение внутричерепное	7	14,2%
Кровотечение из области канюляции	6	12,2%
Кровотечение из трахеобронхиального дерева	4	8,1%
Кровотечение диффузное	4	8,1%
Кровотечение из желудочно-кишечного тракта	4	8,1%
Кровотечение забрюшинное	2	4%
Кровотечение внутримышечное	1	2%
Тромбоз вен нижних конечностей	41	53,9%
Тромбоз экстракорпорального контура	9	11,8%
Тромбоэмболия легочной артерии	8	10,5%
Тромбоз внутренней яремной вены	5	6,5%
Тромбоз коронарных артерий	3	3,9%
Тромбоз артерий нижних конечностей	1	1,3%
Тромбоз вен верхних конечностей	1	1,3%
Тромбоз мезентериальный	1	1,3%
Тромбоз внутренней яремной вены + вен нижних конечностей	3	3,9%
Тромбоз внутренней яремной вены + подключичной вены	2	2,6%
Тромбоз артерий + вен нижних конечностей	1	1,3%
Тромбоз артерий нижних конечностей + нисходящей аорты	1	1,3%

Осложнения как тромботического, так и геморрагического характера в некоторых случаях сочетались и носили множественный характер (таблица 20), так, в течение первых 7 суток у двух пациентов кровотечения наблюдались трижды, у 14 человек было зафиксировано по 2 эпизода кровотечения, у семерых по 2 эпизода тромбоза, в 40 наблюдениях мы столкнулись с одним случаем тромбоза, у 35 человек развилось кровотечение однократно; у 42 и 58 пациентов, вошедших в исследование не было зафиксировано ни одного тромбоза и кровотечения соответственно. Так же, в 9 случаях, тромбоз и кровотечение носили сочетанный характер.

Таблица 20. Частота встречаемости осложнений у одного пациента.

Характер осложнений	0 эпизодов	1 эпизод	2 эпизода	3 эпизода
Тромбозы	n=42	n=40	n=14	n=2
Кровотечения	n=58	n=35	n=7	n=0

В ходе исследования нами была проанализирована ассоциация рисков тромбозов и кровотечений с показателями гемостаза, маркерами повреждения эндотелия и окислительного стресса. Для анализа были применены обобщенные смешанные модели (GEE, Generalized Linear Model).

Была установлена связь между активностью антитромбина-III и шансом тромбоза, ОШ составило 0,997 [ДИ 95% 0,996-0,999; $p=0,0476$], то есть увеличение активности антитромбина-III на 1% снижало шанс развития тромбоза на 0,3% (рисунок 17).

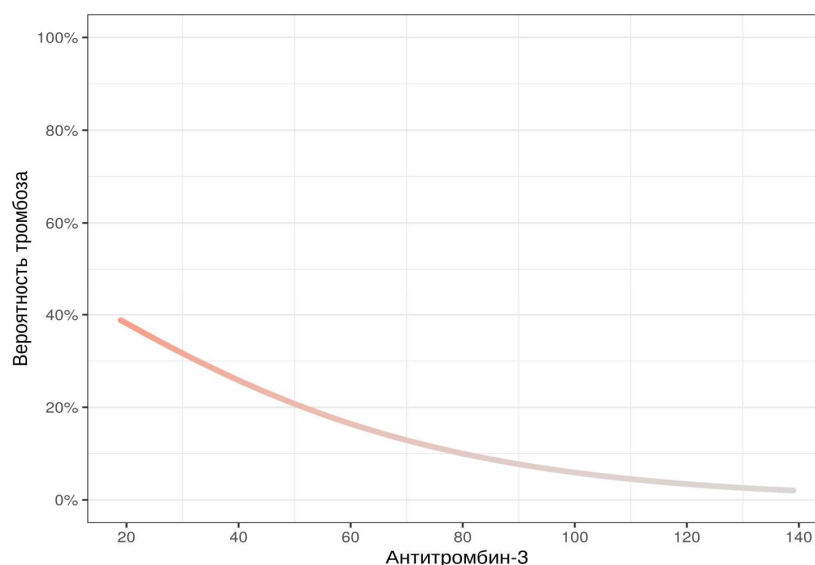


Рисунок 17. Риск тромбоза в зависимости от активности антитромбина-III.

В отношении протромбина была выявлена статистически значимая нелинейная ассоциация с риском развития тромбоза (рисунок 18), ОШ = 0,930 [95% ДИ 0.852-1.015, $p=0.0191$], так при увеличении протромбина по Квику в 2 раза наблюдалось снижение шанса тромбоза на 7%.

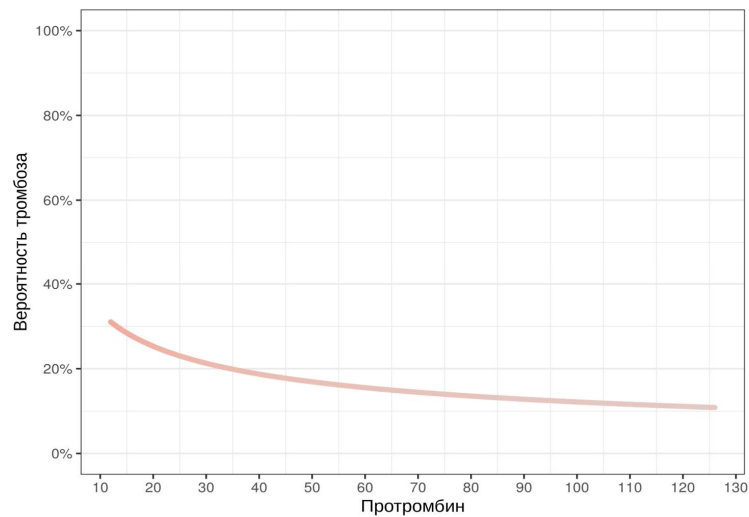


Рисунок 18. Риск тромбоза в зависимости от протромбина по Квику.

Статистически значимая ассоциация риска тромбоза также была выявлена для МНО, протромбинового времени, СТ-Экст, МСФ-Экст, МСЕ-Экст, СФТ-Геп, МДА (таблица 21), что говорит о важности всесторонней оценки состояния системы гемостаза.

Таблица 21. Ассоциация риска тромбоза с показателями гемостаза, маркерами повреждения эндотелия и окислительного стресса.

Показатель	ОШ [95% ДИ]	p	AUC [95% ДИ]
АЧТВ (увеличение на 1 секунду)	0,998 [0,994; 1,001]	0,3166	0,50 [0,42; 0,59]
Антитромбин-III (увеличение на 1%)	0,997 [0,996; 0,999]	0,0476	0,69 [0,56; 0,82]
Тромбоциты $\times 10^9/\text{л}$ (увеличение на 1)	0,999 [0,999; 1,000]	0,0836	0,58 [0,50; 0,66]
Протромбин (увеличение в 2 раза)	0,930 [0,852; 1,015]	0,0191	0,58 [0,50; 0,66]
МНО (увеличение в 2 раза)	1,123 [0,959; 1,314]	0,0080	0,59 [0,51; 0,67]
ПВ (увеличение в 2 раза)	1,143 [0,976; 1,338]	0,0042	0,60 [0,52; 0,68]

Продолжение таблицы 21

Тромбин. Вр. (увеличение на 1 сек)	0,997 [0,991; 1,003]	0,2028	0,54 [0,46; 0,62]
Фибриноген (увеличение в 2 раза)	0,966 [0,928; 1,007]	0,2878	0,55 [0,47; 0,64]
СТ-Инт (увеличение в 2 раза)	0,909 [0,705; 1,171]	0,2210	0,61 [0,45; 0,77]
СТФ-Инт (увеличение в 2 раза)	1,075 [0,989; 1,168]	0,1918	0,59 [0,43; 0,75]
МСФ-Инт (увеличение на 1 мм)	0,994 [0,985; 1,003]	0,7362	0,57 [0,40; 0,74]
МСЕ-И (увеличение на 1 дин/см ²)	1,000 [0,998; 1,002]	0,6425	0,57 [0,40; 0,74]
СТ-Экст (увеличение в 2 раза)	1,378 [1,165; 1,630]	0,0267	0,66 [0,52; 0,81]
СФТ-Экст (увеличение в 2 раза)	1,012 [0,888; 1,153]	0,9744	0,52 [0,33; 0,70]
МСФ-Экст (увеличение на 1)	0,995 [0,989; 1,001]	0,0005	0,56 [0,38; 0,74]
МСЕ-Экст (увеличение на 1)	0,999 [0,998; 0,999]	0,0351	0,55 [0,36; 0,73]
СТ-Фиб (увеличение в 2 раза)	1,063 [0,724; 1,561]	0,4698	0,55 [0,38; 0,72]
МСФ-Фиб (увеличение на 1 мм)	0,988 [0,974; 1,003]	0,4413	0,59 [0,41; 0,78]
СТ-Геп (увеличение на 1 сек)	0,996 [0,993; 1,000]	0,1454	0,74 [0,55; 0,93]
СФТ-Геп (увеличение в 2 раза)	1,070 [0,992; 1,153]	0,0387	0,70 [0,43; 0,96]
МСФ-Геп (увеличение на 1 мм)	0,988 [0,977; 1,000]	0,4180	0,79 [0,61; 0,98]
МСЕ-Геп (увеличение на 1 дин/см ²)	0,989 [0,979; 0,998]	0,1057	0,83 [0,66; 1,00]

Продолжение таблицы 21

Nox (увеличение на 1 мкмоль/л)	1,001 [0,987; 1,015]	0,1318	0,53 [0,38; 0,68]
МДА (увеличение на 1 нмоль/мл)	0,907 [0,822; 1,000]	0,0123	0,65 [0,51; 0,79]
АСЕ (увеличение на 1 ед)	1,003 [1,000; 1,006]	0,1212	0,54 [0,39; 0,68]
TAS (увеличение на 1 ммоль/л)	1,001 [0,905; 1,108]	0,4063	0,51 [0,37; 0,66]

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, МНО – международное нормализованное отношение, ПВ – протромбиновое время, СТ – время свертывания, MCF – максимальная плотность сгустка, MCE – максимальная эластичность сгустка, CFT – время образования сгустка, Инт – тест активации внутреннего пути свертывания, Экст – тест активации внешнего пути свертывания, Фиб – тест вклада фибриногена в плотность сгустка, Геп – тест с гепариназой на наличие свободного гепарина, NOx – оксид азота, АСЕ – ангиотензинпревращающий фермент, MDA – малоновый диальдегид, TAS – общий антиоксидантный статус, ОШ – отношение шансов, AUC – точность прогноза, p – уровень значимости различий.

В соответствии с полученными данными (рисунок 19) риск тромбоза у пациентов с COVID-19 в условиях проведения экстракорпоральной мембранной оксигенации снижался на 9,3% [95% ДИ 0.822 – 1.000; p=0.0123] при увеличении концентрации малонового диальдегида на 1 нмоль/мл, что позволяет предположить положительный эффект гипероксии на выходе из оксигенатора при высоких объемных скоростях крови и газа, а так же положительный эффект коррекции предшествующей гипоксемии и стабилизации тканевого газообмена.

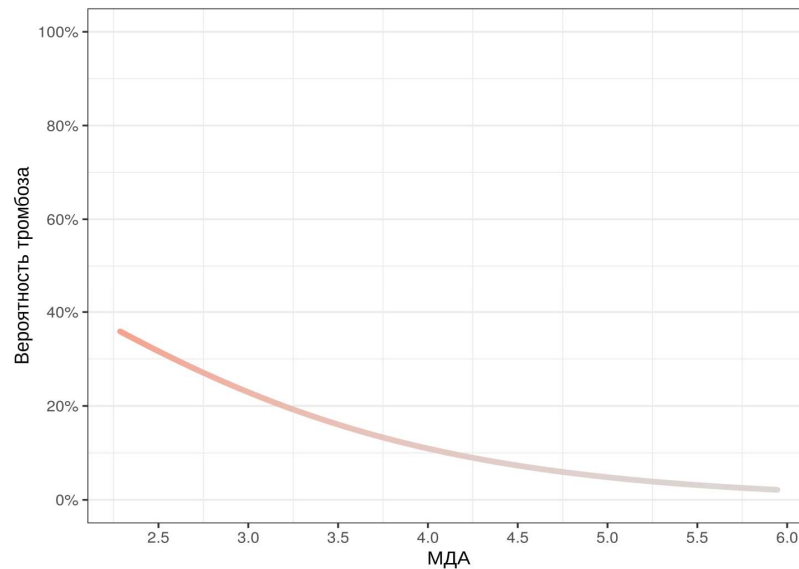


Рисунок 19. Статистически значимая ассоциация риска тромбозов с уровнем малонового диальдегида.

Риск кровотечений статистически значимо был ассоциирован с СТ-Инт, МСЕ-И, МСФ-Экст, МСЕ-Экст, СФТ-Геп, МСФ-Геп, АСЕ (таблица 22).

Таблица 22. Ассоциация риска кровотечений с показателями гемостаза, маркерами повреждения эндотелия и окислительного стресса.

Показатель	ОШ [95% ДИ]	p	AUC [95% ДИ]
АЧТВ (увеличение на 1 сек)	1,000 [0,997; 1,003]	0,3450	0,56 [0,46; 0,66]
Антитромбин-III (увеличение на 1 %)	0,998 [0,997; 1,000]	0,3773	0,68 [0,53; 0,83]
Тромбоциты $\times 10^9$ (увеличение на 1)	1,000 [0,999; 1,000]	0,4466	0,54 [0,43; 0,64]
Протромбин по Квику (увеличение в 2 раза)	0,990 [0,924; 1,062]	0,5177	0,52 [0,42; 0,62]
МНО (увеличение в 2 раза)	1,005 [0,889; 1,136]	0,6979	0,51 [0,41; 0,61]
ПВ (увеличение в 2 раза)	1,010 [0,889; 1,147]	0,6040	0,51 [0,42; 0,61]

Продолжение таблицы 22

Тромбин. Вр. (увеличение на 1 сек)	0,999 [0,994; 1,004]	0,3446	0,59 [0,49; 0,68]
Фибриноген (увеличение в 2 раза)	0,952 [0,916; 0,989]	0,0822	0,61 [0,52; 0,70]
СТ-Инт (увеличение в 2 раза)	0,797 [0,639; 0,995]	0,0032	0,56 [0,19; 0,92]
СТФ-Инт (увеличение в 2 раза)	1,012 [0,885; 1,157]	0,0638	0,69 [0,36; 1,00]
МСФ-Инт (увеличение на 1 мм)	1,002 [0,989; 1,015]	0,0002	0,73 [0,43; 1,00]
МСЕ-И (увеличение на 1 дин/см ²)	1,000 [0,998; 1,002]	0,0076	0,73 [0,43; 1,00]
СТ-Экст (увеличение в 2 раза)	1,013 [0,832; 1,234]	0,9157	0,51 [0,25; 0,77]
СФТ-Экст (увеличение в 2 раза)	0,954 [0,757; 1,202]	0,0581	0,66 [0,41; 0,90]
МСФ-Экст (увеличение на 1 мм)	1,000 [0,994; 1,006]	0,0072	0,70 [0,46; 0,94]
МСЕ-Экст (увеличение на 1 дин/см ²)	1,001 [0,999; 1,002]	0,0059	0,70 [0,45; 0,94]
СТ-Фиб (увеличение в 2 раза)	0,836 [0,616; 1,134]	0,0599	0,55 [0,27; 0,83]
МСФ-Фиб (увеличение на 1 мм)	0,993 [0,976; 1,010]	0,2955	0,65 [0,38; 0,91]
СТ-Геп (увеличение на 1 сек)	0,997 [0,996; 0,999]	0,0632	0,61 [0,27; 0,96]
СФТ-Геп (увеличение в 2 раза)	1,092 [1,005; 1,187]	0,0087	0,67 [0,42; 0,92]
МСФ-Геп (увеличение на 1 мм)	0,996 [0,990; 1,001]	0,0102	0,73 [0,53; 0,93]
МСЕ-Геп (увеличение на 1 дин/см ²)	0,999 [0,997; 1,002]	0,0631	0,73 [0,54; 0,92]

Продолжение таблицы 22

NOx (увеличение на 1 мкмоль/л)	0,997 [0,979; 1,015]	0,2287	0,55 [0,38; 0,72]
МДА (увеличение на 1 нмоль/мл)	0,988 [0,902; 1,082]	0,3822	0,55 [0,33; 0,76]
АСЕ (увеличение на 1 ед)	0,997 [0,994; 1,001]	0,0155	0,58 [0,40; 0,77]
TAS (увеличение на 1 ммоль/л)	0,979 [0,865; 1,110]	0,3995	0,50 [0,29; 0,71]

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, МНО – международное нормализованное отношение, ПВ – протромбиновое время, СТ – время свертывания, MCF – максимальная плотность сгустка, MCE – максимальная эластичность сгустка, CFT – время образования сгустка, Инт – тест активации внутреннего пути свертывания, Экст – тест активации внешнего пути свертывания, Фиб – тест вклада фибриногена в плотность сгустка, Геп – тест с гепариназой на наличие свободного гепарина, NOx – оксид азота, АСЕ – ангиотензинпревращающий фермент, МДА – малоновый диальдегид, TAS – общий антиоксидантный статус, ОШ – отношение шансов, АУС – точность прогноза, p – уровень значимости различий.

Продолжительность ЭКМО в наблюдавшейся выборке пациентов составила минимум – 1 сутки, максимум – 34 дня. У 49 пациентов продолжительность ЭКМО не превышала 7-ми суток, составив в среднем 4 ± 2 , Ме 4 (2-6) дней; у 51-го – ЭКМО проводилась дольше, период наблюдения в среднем составил 16 ± 7 , Ме 14 (10-18) дней. В группе «малого» срока в период проведения ЭКМО произошло 39 эпизодов тромбоза и 32 эпизода кровотечения. В группе «долгого» срока – 73 и 45 эпизодов соответственно. Суммарное количество дней наблюдения для всех 49-ти пациентов группы «короткой» продолжительности ЭКМО составило 204 дня (количество койко-дней одного больного + количество койко-дней второго больного + ... + 49-го больного); суммарное количество дней наблюдения для 51-го пациента группы «долгой» продолжительности ЭКМО составило 786 дней (количество койко-дней

одного больного + количество койко-дней 2-го больного ++ 51-го больного). То есть продолжительность временных отрезков, на которых учитывались эпизоды тромбогеморрагических осложнений, были разными. Кроме того, как уже отмечалось выше, осложнения как тромботического, так и геморрагического характера в ряде случаев сочетались и/или носили множественный характер. Структура полученных данных такова, что для каждого пациента имелось разное количество наблюдений, причем на разных сроках. Поэтому для анализа полученных данных был использован метод смешанных линейных и смешанных обобщенных линейных моделей (Generalized Estimating Equations, Generalized Linear Model) для бинарного исхода; интерпретация полученных значений отношения шансов (ОШ) такая же, как и в обычной логистической регрессии.

В группе «долгого» срока по сравнению с группой «малого» срока шанс тромбоза был в среднем в 2,353 раза ниже (ОШ 0,425; 95% ДИ [0,266; 0,680], $p=0,0004$), а шанс кровотечения оказался ниже в 3,067 раза (ОШ 0,326; 95% ДИ [0.201; 0.529], $p < 0,0001$) (таблица 23). Полученный высоко статистически значимый результат можно интерпретировать следующим образом: среди пациентов «малого» срока ЭКМО было много наиболее тяжелых, наблюдение за которыми было прекращено на ранних сроках в связи с летальным исходом; а пациенты другой группы смогли пережить 7-суточный отрезок времени и продолжили лечение, в том числе методом ЭКМО.

Таблица 23. Отношение шансов развития осложнений.

Событие	Сравнение	ОШ [95% ДИ]	p
Тромбоз	Группа долгого срока / группа малого срока	0.425 [0.266; 0.680]	0.0004
Кровотечение	Группа долгого срока / группа малого срока	0.326 [0.201; 0.529]	<0.0001

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал, p – уровень значимости различий.

Пролонгирование жизни пролонгировало и проведение интенсивной терапии и ЭКМО, что позволило у части пациентов добиться некоторой стабилизации состояния и регресса расстройств гемостаза.

Таким образом большинство учтенных параметров гемостаза, оксидативного статуса и эндотелиальной дисфункции, представленные в таблицах 21 и 22 не были ассоциированы с частотой тромбгеморрагических осложнений или были ассоциированы очень слабо, однако было установлено, что повышение активности антитромбина-III приводило к статистически значимому снижению шанса развития тромбозов, что подтверждает целесообразность применения концентрата антитромбина-III у пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО.

Частота развития тромбгеморрагических осложнений была высокой. Наиболее распространенной локализацией кровотечения явились верхние дыхательные пути (24,4%), а также внутриплевральные кровотечения (18,3%), интракраниальные кровотечения (14,2%), кровотечения из области канюляции (12,2%); другие локализации отмечались реже. Наиболее частой локализацией тромбоза явились вены нижних конечностей (53,9%), а также тромбоз экстракорпорального контура (11,8%), тромбоз эмболия легочной артерии (10,5%). Артериальные тромбозы наблюдали реже: тромбоз коронарных артерий (3,9%); Тромбоз артерий нижних конечностей (3,9%), в том числе в одном наблюдении – тромбоз артерий нижних конечностей и нисходящей аорты, мезентериальный тромбоз (1,3%).

У 16% пациентов (16 из 100) отмечались множественные тромбозы, а у 7% (7 из 100) – два эпизода кровотечения за наблюдаемый период. В 7,2% наблюдений у одного и того же больного фиксировали и тромбоз, и кровотечение.

Первые 7 дней с момента подключения ЭКМО пациентам с COVID-19 явились наиболее критичным периодом с точки зрения вероятности развития COVID-19/ЭКМО-ассоциированных осложнений тромботического и геморрагического характера. У пациентов, переживших 7-суточный период ЭКМО, шанс развития тромбоза был в 2,353 раза ниже (ОШ 0,425; 95% ДИ [0,266; 0,680], $p=0,0004$), а шанс развития кровотечения – в 3,067 раза ниже (ОШ 0,326; 95% ДИ

[0.201; 0.529], $p < 0,0001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Критические пациенты с COVID-19, нуждающиеся в проведении ЭКМО, представляют собой одну из наиболее тяжелых категорий реанимационных больных, лечение которых требует значительных человеческих и экономических ресурсов.

Особенностями новой коронавирусной инфекции явились грубые, быстро прогрессирующие расстройства оксигенации крови и расстройства свертывающей системы крови. При тяжелом течении COVID-19 у части пациентов метод коррекции расстройств оксигенации при помощи искусственной вентиляции легких оказался неэффективным, и единственной альтернативой явилась экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО). Сам метод ЭКМО предполагает достаточно агрессивное вмешательство в коагуляционный гомеостаз, который подвергается одновременно воздействию COVID-19.

Экстракорпоральный контур привносит дополнительные факторы дестабилизации, индуцируя контактную активацию тромбоцитов, потенцируя системный воспалительный ответ и приводя к потреблению материалами контура факторов свертывания.

Использование экстракорпорального контура предполагает контакт крови с чужеродной неэндотелизированной поверхностью и приводит к активации коагуляционного и фибринолитического путей, а также активации системы комплемента.

Формирование тромботических масс в оксигенаторе, как и в остальных частях контура наблюдается достаточно часто и может приводить к нарушению работы оксигенатора и тромбоэмболиям. Резкое увеличение D-димера может свидетельствовать о начинающемся тромбозе оксигенатора и необходимости его замены.

Причиной механического гемолиза выступает тромбоз головки центрифужного насоса ЭКМО. Это осложнение встречается не так часто, но всегда

клинически значимо.

Одной из причин кровотечений у пациентов на ЭКМО является диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС). ДВС может быть особенностью течения основного заболевания, однако и сама экстракорпоральная поддержка как правило ассоциируется с ДВС-подобной коагулопатией потребления по причине повреждения форменных элементов крови и контактной активации на искусственной мембране. D-димер как правило у пациентов на ЭКМО повышен, поэтому малоинформативен.

Низкий уровень протеина С и антитромбина-III наблюдаются у большинства пациентов в дополнение к низкому уровню ингибитора пути тканевого фактора.

Отложение тромботических масс внутри контура, включая мембранный оксигенатор, может приводить к избыточному фибринолизу, характеризующемуся резким увеличением D-димера и диффузными кровотечениями.

Непульсирующий или низкопульсационный кровоток может служить причиной возникновения приобретенного синдрома Виллебранда вследствие воздействия высокого напряжения сдвига, что, как правило, приводит к увеличению риска кровотечения и разрешается при смене насоса.

Целью нашего исследования было улучшение результатов лечения пациентов с COVID-19 в условиях экстракорпоральной мембранной оксигенации путем снижения частоты осложнений, связанных с нарушениями в системе гемостаза. Так как несмотря на соблюдение протоколов ведения пациентов на ЭКМО пре-COVID-19 формата число клинически значимых осложнений сохранялось высоким.

Поэтому нами были поставлены задачи, направленные на поиск оптимального баланса свертывающей и противосвертывающей системы, позволяющего проводить ЭКМО пациентам с COVID-19 с наименьшим риском тромбогеморрагических осложнений.

Мы оценили динамику объема антикоагулянтной терапии, показателей гемостаза, маркеров повреждения эндотелия, маркеров окислительного стресса, маркеров воспалительного ответа и взаимосвязь между ними.

Был установлен разнонаправленный характер изменений параметров гемостаза, обуславливавший крайнюю нестабильность системы гемостаза, подходы к коррекции которых представляют клиническую сложность. Так, на фоне проведения ЭКМО и соответствующей антикоагулянтной терапии было установлено, что в общей группе пациентов с COVID-19 на ЭКМО статистически значимо АЧТВ увеличивалось в среднем на 2.37 секунд [ДИ 95% -2.38; 7.11] каждый день ($p = 0.0208$). Тромбоциты в среднем снижались на $27.00 \times 10^9/\text{л}$ [ДИ 95% -31.58; -22.42] в сутки. Протромбин по Квику в среднем уменьшался в 0.94 раза [ДИ 95% 0.89; 0.98] каждый день. Фибриноген в среднем уменьшался в 0.91 раза [ДИ 95% 0.86; 0.96] каждый день. Динамика показателей тромбоэластограммы свидетельствовала о снижении плотности сгустка.

При сравнении групп тяжелого течения COVID-19, не нуждавшихся в ЭКМО, и пациентов на ЭКМО у последних было констатировано более выраженные изменения как свертывающей, так и противосвертывающей систем, усугублявшихся за период наблюдения, что могло быть как следствием применения методики ЭКМО, так и нарастанием тяжести течения COVID-19.

В первые 7 суток с момента подключения ЭКМО было установлено отсутствие прогрессирования окислительного стресса (1 сутки Ме 1,42 [0,9; 1,7] ммоль/л, 3 сутки Ме 1,46 [0,96; 1,71] ммоль/л, 7 – Ме 1,49 [1,17; 1,87] ммоль/л) при сохраняющихся высоких значениях малонового диальдегида (1 сутки Ме 3,87 [3,36; 4,23] нмоль/мл, на 3 сутки Ме 3,93 [3,5; 4,3] нмоль/мл, на 7 сутки – Ме 3,83 [3,38; 4,40] нмоль/мл) и нарастании дисфункции эндотелия (Δ оксида азота = -0.85 [-2.89; 1.19], $p=0,0173$).

По динамике СРБ активность воспалительного процесса нарастала (в первые сутки Ме 11,5 [2,1; 49,5] мг/мл, к третьим суткам Ме 44,4 [5,3; 90,8] мг/мл, а к седьмым – Ме 76,3 [25,3; 162,5] мг/мл), однако гематологические маркеры (отношение нейтрофилов к лимфоцитам, отношение тромбоцитов к лимфоцитам и системный иммуно-воспалительный индекс), ассоциированные с тяжестью течения COVID-19 снижались (SII в 1 сутки – Ме 3,836.0 [1,880.7; 6,383.5], на 3 сутки – Ме 2,099.2 [905.9; 3,393.4], на 7 сутки – Ме 1,256.4 [682.4; 2,716.9]).

Динамика гематологических маркеров свидетельствовала о сдерживании инфекционного процесса, повреждающего форменные элементы крови и эндотелий.

Была установлена корреляционная связь между активностью оксида азота и уровнем гематологических маркеров, ассоциированных с тяжелым течением и неблагоприятным исходом COVID-19: оксид азота/соотношение «Тромбоциты/Лимфоциты» $R = -0,45$ [95% ДИ $-0,68; -0,15$], $p = 0,0059$ и оксид азота/соотношение «Тромбоциты x Нейтрофилы / Лимфоциты» $R = -0,41$ [95% ДИ $-0,65; -0,09$], $p = 0,0146$. Снижение протективной функции оксида азота ассоциировалось с более тяжелым течением коронавирусного заболевания и неблагоприятным исходом.

Причинами роста СРБ могли служить как активация системного воспалительного ответа в результате контакта крови с неэндотелизированной поверхностью магистралей ЭКМО, так и давление сдвига на разных участках контура и механическим разрушением форменных элементов подвижной частью центрифужного насоса, а также присоединение вторичной бактериальной инфекции.

Частота развития тромбгеморрагических осложнений была высокой. Наиболее распространенной локализацией кровотечения явились верхние дыхательные пути (24,4%), а также внутриплевральные кровотечения (18,3%), интракраниальные кровотечения (14,2%), кровотечения из области канюляции (12,2%); другие локации отмечались реже. Наиболее частой локализацией тромбоза явились вены нижних конечностей (53,9%), а также тромбоз экстракорпорального контура (11,8%), тромбоз эмболия легочной артерии (10,5%). Артериальные тромбозы наблюдали реже: тромбоз коронарных артерий (3,9%); Тромбоз артерий нижних конечностей (3,9%), в том числе в одном наблюдении – тромбоз артерий нижних конечностей и нисходящей аорты, мезентериальный тромбоз (1,3%).

У 16% пациентов (16 из 100) отмечались множественные тромбозы, а у 7% (7 из 100) – два эпизода кровотечения за наблюдаемый период. В 7,2% наблюдений у одного и того же больного фиксировали и тромбоз, и кровотечение.

Первые 7 дней с момента подключения ЭКМО пациентам с COVID-19 явились наиболее критичным периодом с точки зрения вероятности развития COVID-19/ЭКМО-ассоциированных осложнений тромботического и геморрагического характера. У пациентов, переживших 7-суточный период ЭКМО, шанс развития тромбоза был в 2,353 раза ниже (ОШ 0,425; 95% ДИ [0,266; 0,680], $p=0,0004$), а шанс развития кровотечения – в 3,067 раза ниже (ОШ 0,326; 95% ДИ [0,201; 0,529], $p < 0,0001$).

Анализ роли антитромбина-III позволил установить связь его активности с шансом возникновения тромботических осложнений и определить минимальное пороговое значение для снижения риска осложнений.

Увеличение активности антитромбина-III на 1% снижало шанс развития тромбоза на 0,3% (ОШ 0,997 [ДИ 95% 0,996-0,999; $p=0,0476$]). А применение в интенсивной терапии препаратов антитромбина-III при тяжелой коронавирусной инфекции у пациентов с некомпенсируемой гипоксемией, нуждавшихся в проведении ЭКМО, позволило снизить шанс развития тромбозов в 2,22 раза (ОШ 0,450 [0,448; 0,451], $p < 0,0001$), а шанс развития кровотечений – в 1,73 раза (ОШ 0,578 [0,330; 1,012], $p=0,0551$). Была установлена оптимальная точка отсечения активности антитромбина-III – 82,5%

Полученные данные свидетельствуют о пользе применения препарата антитромбина-III, ограничения дозы нефракционированного гепарина, использования в качестве прогностических средств маркеров повреждения эндотелия и окислительного стресса. Поскольку представленная интерпретация полученных данных расходится с актуальными рекомендациями по ведению пациентов с COVID-19 в условиях ЭКМО, необходимо запланировать дальнейшие исследования, посвященные оценке роли маркеров повреждения эндотелия и окислительного стресса в прогнозировании COVID-19 ЭКМО-ассоциированных тромботических и геморрагических осложнений.

ВЫВОДЫ

1. В первые 7 суток проведения ЭКМО у пациентов с COVID-19 отмечались как признаки гипокоагуляции, так и гиперкоагуляции с преобладанием гипокоагулянтного состояния.

2. При проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19 в первые 7 суток наблюдался прогрессирующий дефицит маркера эндотелиальной дисфункции – оксида азота ($\Delta = -0.85$ [95% ДИ -2.89; 1.19] $p=0,0173$), что ассоциировалось с прогрессированием дисфункции эндотелия. Снижение протективной функции оксида азота ассоциировалось с более тяжелым течением коронавирусного заболевания и неблагоприятным исходом (отрицательная средней силы корреляция концентрации оксида азота с соотношением «Тромбоциты/Лимфоциты» ($R= -0,45$ [95% ДИ -0,68; -0,15], $p=0,0059$) и с соотношением «Тромбоциты x Нейтрофилы / Лимфоциты» ($R= -0.41$ [95% ДИ -0,65; -0,09], $p=0,0146$).

3. Первые 7 дней – наиболее критичный период для развития COVID-19/ЭКМО-ассоциированных тромбгеморрагических осложнений. У пациентов, переживших 7-суточный период, риск развития тромбоза снижался в 2,353 раза (ОШ 0,425; 95% ДИ [0,266; 0,680], $p=0,0004$), а риск развития кровотечения – в 3,067 раза (ОШ 0,326; 95% ДИ [0.201; 0.529], $p < 0,0001$).

4. Увеличение активности антитромбина-III на 1% снижало риск развития тромбоза на 0,3% (ОШ 0,997; 95% ДИ [0,996-0,999], $p=0,0476$). Применение препаратов антитромбина-III при тяжелой коронавирусной инфекции у пациентов с некомпенсируемой гипоксемией, нуждавшихся в проведении ЭКМО, позволило снизить риск развития тромбозов в 2,22 раза (ОШ 0.450 [0.448; 0.451], $p < 0,0001$), риск развития кровотечений – в 1,73 раза (ОШ 0.578 [0.330; 1.012], $p=0,0551$). Оптимальная точка отсечения активности антитромбина-III – 82,5%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При проведении ЭКМО у пациентов с COVID-19 показатели гемостаза меняются разнонаправленно, угрожая повышенным риском как тромбозов, так и кровотечений, что требует обязательного лабораторного контроля АЧТВ, активности антитромбина-III, ТЭГ ROTEM, АВСК.

2. В случае использования в качестве основного антикоагулянта нефракционированного гепарина во избежание развития тромбозов следует поддерживать активность антитромбина выше 82,5%, дозировку нефракционированного гепарина – не более 9,3 МЕ/кг/час.

3. При оценке выраженности системного воспалительного ответа у пациентов с тяжелым течением COVID-19 следует осуществлять динамический мониторинг гематологических индексов PLR, SII и уровня С-реактивного белка, так как в первые 7 суток проведения ЭКМО исходно повышенный в 2-7 раз уровень соотношений «тромбоциты / лимфоциты» (PLR – platelet-to-lymphocyte ratio) и «тромбоциты x нейтрофилы / лимфоциты» (SII – systematic immune-inflammation index) статистически значимо снижался ($p < 0,0001$), а уровень С-реактивного белка возрастал ($p = 0,0002$).

4. В случае обнаружения признаков кровотечения или тромбоза следует выполнить диагностику объективными методами исследования зон частой локализации. Наиболее частой локализацией кровотечения являются верхние дыхательные пути (24,4%), также наблюдаются внутриплевральные кровотечения (18,3%), интракраниальные кровотечения (14,2%), кровотечения из области канюляции (12,2%). Наиболее частой локализацией тромбоза являются вены нижних конечностей (53,9%), также наблюдаются тромбозы экстракорпорального контура (11,8%), тромбоз эмболия легочной артерии (10,5%).

5. При диагностировании тромбоза или кровотечения у крайне тяжелых пациентов с COVID-19 на ЭКМО следует проводить широкий скрининг пациента на предмет осложнений, связанных с нарушениями системы гемостаза, так как проведение ЭКМО у данной категории пациентов сочетается в 16% (16/100)

наблюдений с множественными тромбозами, в 7% (7/100) – с множественными кровотечениями; в 7% наблюдается сочетание тромбоза и кровотечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АВСК – активированное время свертывания крови
- АД – артериальное давление
- АПФ (АСЕ) – ангиотензинпревращающий фермент
- АСТ – активированное время свертывания
- АФА – антифосфолипидные антитела
- АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
- ВВ-ЭКМО – веновенозная экстракорпоральная мембранная оксигенация
- ГИТ – гепарин-индуцированная тромбоцитопения
- ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- ДН – дыхательная недостаточность
- ЖКК – желудочно-кишечное кровотечение
- ИВЛ – искусственная вентиляция легких
- ИМТ – индекс массы тела
- КПК – концентрат протромбинового комплекса
- КТ – компьютерная томография
- ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
- МДА – малоновый диальдегид
- МНО – международное нормализованное отношение
- НМГ – низкомолекулярный гепарин
- НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
- ОРДС – острый респираторный дистресс синдром
- ОРЗ – острое респираторное заболевание
- ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
- ОЦК – объем циркулирующей крови
- ПВ – протромбиновое время
- ПДКВ – положительное давление конца выдоха
- ПТИ – протромбиновый индекс
- РДС – респираторный дистресс синдром

РОТЭМ – ротационная тромбоэластометрия
COVID-19 – коронавирус-индуцированное заболевание 2019 года
СЗП – свежезамороженная плазма
СРБ – С реактивный белок
ТЭГ – тромбоэластография
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии
ФБС – фибробронхоскопия
ХБП – хроническая болезнь почек
ЧД – частота дыхания
ЧСС – частота сердечных сокращений
ШИГ – шкала исходов Глазго
ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия
ЭКМО – экстракорпоральная мембранная оксигенация
Эр. Взвесь – эритроцитарная взвесь
ЭХО-КГ – эхокардиография
АТ-III – антитромбин III
СFT – время образования сгустка
СТ – время свертывания
FiO₂ – фракция кислорода
GEE – обобщенные оценочные уравнения
MCE – максимальная эластичность сгустка
MDA – малоновый диальдегид
NET – нейтрофильная внеклеточная ловушка
NO_x – оксид азота
PaCO₂ – парциальное давление углекислого газа в артериальной крови
PAI-1 – активатор плазминогена 1 типа
PaO₂ – парциальное давление кислорода в артериальной крови
pH – кислотно-щелочное состояние
SARS-CoV-2 – второй коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром

SII – системный иммуно-воспалительный индекс

SOFA – последовательная оценка органной недостаточности

TAS – общий антиоксидантный статус

TFPI – ингибитор внешнего пути свертывания

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брюхоненко, С.С. Аппарат для искусственного кровообращения (теплокровных) / С.С. Брюхоненко // Изучение новых методов искусственного кровообращения и переливания крови. – Москва, 1928. – С. 73-80.
2. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации для работы медицинских учреждений в условиях эпидемии COVID-19 Версия 15 (22.02.2022) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://xn--d1aaqkhckg.xn--p1ai/files/all-sites/info/vmr_covid-19_v15.pdf
3. Галстян, Г.М. Коагулопатия при COVID-19 / Г.М. Галстян // Пульмонология. – 2020. – Т. 30, № 5. – С. 645-657. – doi: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-645-657
4. Евсеев, А.К. Мембраны в технологии экстракорпоральной оксигенации крови / А.К. Евсеев, С.В. Журавель, А.Ю. Алентьев [и др.] // Мембраны и мембранные технологии. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 235-246.
5. Журавель, С.В. Историческое развитие и перспективы экстракорпоральной мембранной оксигенации в клинической практике / С.В. Журавель, А.К. Евсеев, А.Д. Колокольцев [и др.] // Высокотехнологичная медицина. – 2020. – Т. 7, № 1. – С. 51-58.
6. Журавель, С.В. Применение антитромбина-III при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в условиях экстракорпоральной мембранной оксигенации (клиническое наблюдение) / С.В. Журавель, В.В. Владимиров, П.В. Гаврилов [и др.] // НМП. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 642-648.
7. Макацария, А.Д. COVID-19, нарушения гемостаза и риск тромботических осложнений / А.Д. Макацария, Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе [и др.] // Вестник РАМН. – 2020. – № 4. – С. 306-317.
8. Мартынов, М.Ю. Эндотелиальная дисфункция при COVID-19 и когнитивные нарушения / М.Ю. Мартынов, А.Н. Боголепова, А.Н. Ясаманова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2021. – Т. 121, № 6. – С.

93-99.

9. Степанова, Т.В. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) / Т.В. Степанова, А.Н. Иванов, Н.Е. Терешкина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – № 1. – С. 34-41.

10. Ackermann, M. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 / M. Ackermann, S.E. Verleden, M Kuehnel. [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2020. – Vol. 383, № 2. – P. 120-128.

11. Alhazzani, W. Surviving Sepsis Campaign: Guidelines on the Management of Critically Ill Adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / W. Alhazzani, M.H. Møller, Y.M. Arabi [et al.] // Crit Care Med. – 2020. – Vol. 48, № 6. – P. e440-e469. – doi: 10.1097/CCM.0000000000004363

12. Alwan, N.A. The road to addressing Long Covid / N.A. Alwan // Science. – 2021. – Vol. 373, № 6554. – P. 491-493.

13. Anderson, R.M. Epidemiology, transmission dynamics and control of SARS: the 2002–2003 epidemic / R.M. Anderson, C. Fraser, A.C. Ghani [et al.] // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2004. – Vol. 359, № 1447. – P. 1091-1105. – doi: 10.1098/rstb.2004.1490.

14. Anthony, S.J. Global patterns in coronavirus diversity / S.J. Anthony, C.K. Johnson, D.J. Greig [et al.] // Virus evolution. – 2017. – Vol. 3, № 1. – P. 012. – doi: 10.1093/ve/vex012

15. Badulak, J. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19: updated 2021 guidelines from the extracorporeal life support organization / J. Badulak, M.V. Antonini, C.M. Stead [et al.] // Asaio Journal. – 2021. – Vol. 67, № 5. – P. 485-495. – doi: 10.1097/MAT.0000000000001422

16. Barbaro, R.P. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19: evolving outcomes from the international Extracorporeal Life Support Organization Registry / R.P. Barbaro, G. MacLaren, P.S. Boonstra [et al.] // The Lancet. – 2021. – Vol. 398, № 10307. – P. 1230-1238. – doi: 10.1016/S0140-6736(21)01960-7

17. Barbaro, R.P. Extracorporeal membrane oxygenation support in COVID-19:

an international cohort study of the Extracorporeal Life Support Organization registry / R.P. Barbaro, G. MacLaren, P.S. Boonstra [et al.] // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 396, № 10257. – P. 1071-1078.

18. Bartlett, R H. Extracorporeal life support in the management of severe respiratory failure / R.H. Bartlett // *Clinics in chest medicine*. – 2000. – Vol. 21, № 3. – P. 555-561. – doi: 10.1016/s0272-5231(05)70166-0

19. Bartlett, R. ECLS: Past, present, and future / R. Bartlett // *Qatar Med J*. – 2017 (1: 4th Annual ELSO-SWAC Conference Proceedings.). – Art. 8. – doi: 10.5339/qmj.2017.swacelso.8

20. Bartlett, R.H. Current and future status of extracorporeal life support for respiratory failure in adults / R.H. Bartlett, K.B. Deatruck // *Curr Opin Crit Care*. – 2016. – Vol. 22, № 1. – P. 80-85. – doi: 10.1097/MCC.0000000000000274

21. Bartlett, R.H. Extracorporeal life support: Gibbon fulfilled / R.H. Bartlett // *Journal of the American College of Surgeons*. – 2014. – Vol. 218, № 3. – P. 317-327. – doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.12.002

22. Bell, M.L. The mixed model for repeated measures for cluster randomized trials: a simulation study investigating bias and type I error with missing continuous data / M.L. Bell, B.A. Rabe // *Trials*. – 2020. – Vol. 21, № 1. – P. 148. – doi: 10.1186/s13063-020-4114-9

23. Beyls, C. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19-associated severe acute respiratory distress syndrome and risk of thrombosis / C. Beyls, P. Huette, O. Abou-Arab [et al.] // *Br J Anaesth*. – 2020. – Vol. 125, № 2. – P. e260-e262. – doi: 10.1016/j.bja.2020.04.079

24. Biancari, F. Six-month survival after extracorporeal membrane oxygenation for severe COVID-19 / F. Biancari, G. Mariscalco, M. Dalén [et al.] // *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2021. – Vol. 35, № 7. – P. 1999-2006.

25. Bikdeli, B. COVID-19 and thrombotic or thromboembolic disease: implications for prevention, antithrombotic therapy, and follow-up / B. Bikdeli, M.V. Madhavan, D. Jimenez // *J Am Coll Cardiol*. – 2020. – Vol. 75, № 23. – P. 2950-2973. – doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.031

26. Bilen, O. Severe thrombotic and bleeding complications in a baby with heterozygous factor V Leiden and acquired von Willebrand disease on ECMO / O. Bilen, L. Loftis, J. Teruya // *J Extra Corpor Technol.* – 2011. – Vol. 43, № 2. – P. 64-69.
27. Bitsadze, V.O. The acquired form of ADAMTS-13 deficiency as the cause of thrombotic microangiopathy in a pregnant woman with recurrent cerebral circulation disorders, venous thromboembolism, preeclampsia and fetal loss syndrome / V.O. Bitsadze, J. Khizroeva, A.D. Makatsariya // *Case Reports in Perinatal Medicine.* – 2017. – Vol. 6, № 2. – doi: 10.1515/crpm-2017-0023
28. Bonastre, J. Extracorporeal lung support in patients with severe respiratory failure secondary to the 2010–2011 winter seasonal outbreak of influenza A (H1N1) in Spain / J. Bonastre, B. Suberviola, J.C. Pozo [et al.] // *Medicina Intensiva (English Edition).* – 2012. – Vol. 36, № 3. – P. 193-199. – doi: 10.1016/j.medin.2011.12.004
29. Borczuk, A.C. COVID-19 pulmonary pathology: a multi-institutional autopsy cohort from Italy and New York City / A.C. Borczuk, S.P. Salvatore, S.V. Seshan [et al.] // *Modern Pathology.* – 2020. – Vol. 33, № 11. – P. 2156-2168. -ndoi: 10.1038/s41379-020-00661-1
30. Brandi, G. Indications and contraindications for extracorporeal life support for severe heart or lung failure: a systematic review / G. Brandi, D. Drewniak, P.K. Buehler [et al.] // *Minerva Anesthesiol.* – 2021. – Vol. 87, № 2. – P. 199-209. – doi: 10.23736/S0375-9393.20.14513-9
31. Cao, W. Factor VIII accelerates proteolytic cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 / W. Cao, S. Krishnaswamy, R.M. Camire [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2008. – Vol. 105, № 21. – P. 7416-7421. – doi: 10.1073/pnas.0801735105
32. Carpio-Orantes, L.D. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and systemic immune-inflammation index in patients with COVID-19-associated pneumonia / L.D. Carpio-Orantes, S. García-Méndez, S.N. Hernández-Hernández [et al.] // *Gac Med Mex.* – 2020. – Vol. 156, № 6. – P. 527-531. – doi: 10.24875/GMM.M21000480
33. Cervera, R. The diagnosis and clinical management of the catastrophic

antiphospholipid syndrome: a comprehensive review / R. Cervera, -Pintó I. Rodríguez, G. Espinosa // *Journal of autoimmunity*. – 2018. – Vol. 92. – P. 1-11. – doi: 10.1016/j.jaut.2018.05.007

34. Chan, A.S. Use of Neutrophil-to-Lymphocyte and Platelet-to-Lymphocyte Ratios in COVID-19 / A.S. Chan, A. Rout // *J Clin Med Res*. – 2020. – Vol. 12, № 7. – P. 448-453. – doi: 10.14740/jocmr4240

35. Chong, W.H. State-of-the-art review of secondary pulmonary infections in patients with COVID-19 pneumonia / W.H. Chong, B.K. Saha, A. Ramani [et al.] // *Infection*. – 2021. – Vol. 49, № 4. – P. 591-605. – doi: 10.1007/s15010-021-01602-z

36. Ciceri, F. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis / F. Ciceri, L. Beretta, A.M. Scandroglio [et al.] // *Critical care and resuscitation*. – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 95-97.

37. Clark Jr, L.C. The oxygenation of blood by gas dispersion / L.C. Clark Jr, F. Gollan, V.B. Gupta // *Science*. – 1950. – Vol. 111, № 2874. – P. 85-87. – doi: 10.1126/science.111.2874.85-a

38. Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected [Электронный ресурс] // World Health Organization. – Режим доступа: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance>

39. Combes, A. Development of an analytical procedure for quantifying the underivatized neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine in brain tissues / A. Combes, S. El Abdellaoui, J. Vial [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2014. – Vol. 406, № 19. – P. 4627-4636. – doi: 10.1007/s00216-014-7872-y

40. Combes, A. Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Acute Respiratory Distress Syndrome / A. Combes, D. Hajage, G. Capellier [et al.] // *N Engl J Med*. – 2018. – Vol. 378, № 21. – P. 1965-1975. – doi: 10.1056/NEJMoa1800385

41. Connors, J.M. Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19 / J.M. Connors, J.H. Levy // *J Thromb Haemost*. – 2020. – Vol. 18, № 7. – P. 1559-1561. – doi: 10.1111/jth.14849

42. Cui, J. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses / J. Cui, F. Li, Z.L. Shi // *Nature reviews microbiology*. – 2019. – Vol. 17, № 3. – P. 181-192. – doi: 10.1038/s41579-018-0118-9
43. De Wit, E. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses / E. De Wit, N. Van Doremalen, D. Falzarano [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2016. – Vol. 14, № 8. – P. 523-534. – doi: 10.1038/nrmicro.2016.81.
44. Despotis, G.J. Mechanisms and attenuation of hemostatic activation during extracorporeal circulation / G.J. Despotis, M.S. Avidan, C.W. Hogue Jr. // *Ann Thorac Surg*. – 2001. – Vol. 72, № 5. – P. S1821-1831. – doi: 10.1016/s0003-4975(01)03211-8
45. Diagnosis and Treatment Protocol for COVID-19 (Trial Version 7) [Электронный ресурс] // National Health Commission of the People's Republic of China. – Режим доступа: http://en.nhc.gov.cn/2020-03/29/c_78469.htm
46. Diaz, R.A. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19-associated severe acute respiratory distress syndrome in Chile: a nationwide incidence and cohort study / R.A. Diaz, J. Graf, J.M. Zambrano [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2021. – Vol. 204, № 1. – P. 34-43. – doi: 10.1164/rccm.202011-4166OC
47. Docea, A.O. A new threat from an old enemy: Re-emergence of coronavirus / A.O. Docea, A. Tsatsakis, D. Albulescu [et al.] // *International journal of molecular medicine*. – 2020. – Vol. 45, № 6. – P. 1631-1643. – doi: 10.3892/ijmm.2020.4555.
48. Downie, I. Pseudo heparin resistance caused by elevated factor VIII in a critically ill patient / I. Downie, Z. Liederman, K. Thiyagarajah [et al.] // *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. – 2019. – Vol. 66, № 8. – P. 995-996. – doi:10.1007/s12630-019-01391-y
49. Drexler, J.F. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS / J.F. Drexler, V.M. Corman, C. Drosten // *Antiviral research*. – 2014. – Vol. 101. – P. 45-56. – doi: 10.1016/j.antiviral.2013.10.013
50. Drosten, C. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome / C. Drosten, S. Günther, W. Preiser [et al.] // *New England journal of medicine*. – 2003. – Vol. 348, № 20. – P. 1967-1976. – doi: 10.1056/NEJMoa030747

51. ELSO Guidelines for Patient Care, Respiratory & Cardiac Support, ECMO in COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.else.org/ecmo-resources/else-ecmo-guidelines.aspx>
52. Escher, R. ADAMTS13 activity, von Willebrand factor, factor VIII and D-dimers in COVID-19 inpatients / R. Escher, N. Breakey, B. Lämmle // *Thrombosis research*. – 2020. – Vol. 192. – P. 174-175. – doi: 10.1016/j.thromres.2020.05.032
53. Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) report in 2018 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.else.org/>
54. Fani, M. Comparison of the COVID-2019 (SARS-CoV-2) pathogenesis with SARS-CoV and MERS-CoV infections / M. Fani, A. Teimoori, S. Ghafari // *Future Virology*. – 2020. – Vol. 15, № 5. – P. 317-323. – doi: 10.2217/fvl-2020-0050
55. Fehr, A.R. *Coronaviruses* / A.R. Fehr, S. Perlman. – Springer; Berlin/Heidelberg, Germany, 2015. – P. 1–23.
56. Feng, C. Log-transformation and its implications for data analysis / C. Feng, H. Wang, N. Lu [et al.] // *Shanghai Arch Psychiatry*. – 2014. – Vol. 26, № 2. – P. 105-109. – doi: 10.3969/j.issn.1002-0829.2014.02.009
57. Fois, A.G. The Systemic Inflammation Index on Admission Predicts In-Hospital Mortality in COVID-19 Patients / A.G. Fois, P. Paliogiannis, V. Scano [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, № 23. – P. 5725. – doi: 10.3390/molecules25235725
58. Frantzeskaki, F. Immunothrombosis in acute respiratory distress syndrome: Cross talks between inflammation and coagulation / F. Frantzeskaki, A. Armaganidis, S.E. Orfanos [et al.] // *Respiration*. – 2017. – Vol. 93, № 3. – P. 212-225.
59. Gaisendrees, C. Adequate anticoagulation and ECMO therapy in COVID-19 patients with severe pulmonary embolism / C. Gaisendrees, S.G. Walter, A. Elderia [et al.] // *Perfusion*. – 2021. – Vol. 36, № 6. – P. 575-581. – doi: 10.1177/0267659120979887
60. Gavriilaki, E. Linking complement activation, coagulation, and neutrophils in transplant-associated thrombotic microangiopathy / E. Gavriilaki, A. Chrysanthopoulou, I. Sakellari [et al.] // *Thrombosis and haemostasis*. – 2019. – Vol. 119, № 09. – P. 1433-1440. – doi: 10.1055/s-0039-1692721
61. Geller, C. Human coronaviruses: insights into environmental resistance and

its influence on the development of new antiseptic strategies / C. Geller, M. Varbanov, R.E. Duval // *Viruses*. – 2012. – Vol. 4, № 11. – P. 3044-3068. – doi: 10.3390/v4113044

62. Guan, W. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China / N. Zhu, D. Zhang, W. Wang [et al.] // *New England journal of medicine*. – 2020. – Vol. 382, № 18. – P. 1708-1720. – doi: 10.1056/NEJMoa2001017

63. Guan, Y. Molecular epidemiology of the novel coronavirus that causes severe acute respiratory syndrome / Y. Guan, J. Peiris, B. Zheng [et al.] // *The Lancet*. – 2004. – Vol. 363, № 9403. – P. 99-104. – doi: 10.1016/S0140-6736(03)15259-2

64. Guo, Z. Anticoagulation Management in Severe Coronavirus Disease 2019 Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation / Z. Guo, L. Sun, B. Li [et al.] // *J Cardiothorac Vasc Anesth*. – 2021. – Vol. 35, № 2. – P. 389-397. – doi: 10.1053/j.jvca.2020.08.067

65. Harrison, P.W. The COVID-19 Data Portal: accelerating SARS-CoV-2 and COVID-19 research through rapid open access data sharing / P.W. Harrison, R. Lopez, N. Rahman [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2021. – Vol. 49, № W1. – P. W619-W623. – doi: 10.1093/nar/gkab417

66. Harzallah, I. Lupus anticoagulant is frequent in patients with Covid-19: Response to Reply / I. Harzallah, A. Debliquis, B. Drénou // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 2020. – doi: 10.1111/jth.14867

67. He, Y. Neutrophil extracellular traps in autoimmune diseases / Y. He, F.Y. Yang, E.W. Sun // *Chinese medical journal*. – 2018. – Vol. 131, № 13. – P. 1513-1519. – doi: 10.4103/0366-6999.235122

68. Heinsar, S. ECMO during the COVID-19 pandemic: When is it justified? / S. Heinsar, G.J. Peek, J.F. Fraser // *Crit Care*. – 2020. – Vol. 24, № 1. – P. 650. – doi: 10.1186/s13054-020-03386-4

69. Hijawi, B. Novel coronavirus infections in Jordan, April 2012: Epidemiological findings from a retrospective investigation / B. Hijawi, M. Abdallat, A. Sayaydeh [et al.] // *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*. – 2013. – Vol. 19. – P. S12–S18. – doi: 10.26719/2013.19.suppl.S12.

70. Hirahara, T. Combined neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte

ratio predicts chemotherapy response and prognosis in patients with advanced gastric cancer / T. Hirahara, T. Arigami, S. Yanagita [et al.] // *BMC Cancer*. – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 672. – doi:10.1186/s12885-019-5903-y

71. Hu, B.S. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in patients with COVID-19: a rapid systematic review of case studies / B.S. Hu, Z.M. Hu, L.X. Jiang [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2020. – Vol. 24, № 22. – P. 11945-11952. – doi: 10.26355/eurrev_202011_23855

72. Huang, Y. The SARS Epidemic and Its Aftermath in China: A Political Perspective / Y. Huang. – National Academies Press; Washington, DC, USA: 2004. – P. 116-136.

73. Huertas, A. Endothelial cell dysfunction: a major player in SARS-CoV-2 infection (COVID-19)? / A. Huertas, D. Montani, L. Savale [et al.] // *European Respiratory Journal*. – 2020. – Vol. 56, № 1. – P. 2001634. – doi: 10.1183/13993003.01634-2020

74. Hyun, J. Correlation between plasma activity of ADAMTS-13 and coagulopathy, and prognosis in disseminated intravascular coagulation / J. Hyun, H.K. Kim, J.-E. Kim [et al.] // *Thrombosis research*. – 2009. – Vol. 124, № 1. – P. 75-79. – doi: 10.1016/j.thromres.2008.11.020

75. Iapichino, G.E. Antithrombin during extracorporeal membrane oxygenation in adults: National survey and retrospective analysis / G.E. Iapichino, A. Protti, D.T. Andreis [et al.] // *ASAIO J*. 2019. – Vol. 65, № 3. – P. 257-263. – doi: 10.1097/MAT.0000000000000806

76. Iba, T. Sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation / T. Iba, M. Levi, J.H. Levy // *Semin Thromb Hemost*. – 2020. – Vol. 46, № 1. – P. 89-95. – doi: <https://doi.org/10.1055/s-0039-1694995>

77. Ionescu, M. The Role of Endothelium in COVID-19 / M. Ionescu, A.P. Stoian, M. Rizzo [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22, № 21. – P. 11920. – doi: 10.3390/ijms222111920

78. Jacobs, J.P. Extracorporeal Membrane Oxygenation in the Treatment of Severe Pulmonary and Cardiac Compromise in Coronavirus Disease 2019: Experience

with 32 Patients / J.P. Jacobs, A.H. Stammers, J. St Louis [et al.] // *ASAIO J.* – 2020. – Vol. 66, № 7. – P. 722-730. – doi: 10.1097/MAT.0000000000001185

79. Kambas, K. The emerging role of neutrophils in thrombosis—the journey of TF through NETs / K. Kambas, I. Mitroulis, K. Ritis // *Frontiers in immunology.* – 2012. – Vol. 3. – P. 385. – doi: 10.3389/fimmu.2012.00385

80. Kaseer, H. Heparin vs bivalirudin anticoagulation for extracorporeal membrane oxygenation / H. Kaseer, M. Soto-Arenall, D. Sanghavi [et al.] // *J Card Surg.* – 2020. – Vol. 35, № 4. – P. 779-786. – doi: 10.1111/jocs.14458

81. Kazancioglu, S. The role of haematological parameters in patients with COVID-19 and influenza virus infection / S. Kazancioglu, A. Bastug, B.O. Ozbay [et al.] // *Epidemiol Infect.* – 2020. – Vol. 148. – P. e272. – doi: 10.1017/S095026882000271X

82. Khan, M. COVID-19: a global challenge with old history, epidemiology and progress so far / M. Khan, S.F. Adil, H.Z. Alkhatlan [et al.] // *Molecules.* – 2020. – Vol. 26, № 1. – P. 39. – doi: 10.3390/molecules26010039

83. Khizroeva, J.H. Laboratory monitoring of COVID-19 patients and importance of coagulopathy markers / J. Khizroeva, A. Makatsariya, V. Bitsadze [et al.] // *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* – 2020. – Vol. 14, № 2. – P. 132-147. – doi: 10.17749/2313-7347.141

84. Ki, M. 2015 MERS outbreak in Korea: hospital-to-hospital transmission / M. Ki // *Epidemiology and health.* – 2015. – Vol. 37. – P. e2015033. – doi: 10.4178/epih/e2015033

85. Kidde, J. COVID-19 Is an Endothelial Disease: Implications of Nitric Oxide / J. Kidde, A.M. Gorabi, T. Jamialahmadi [et al.] // *Clinical, Biological and Molecular Aspects of COVID-19.* – Springer, Cham, 2021. – P. 109-113. – doi: 10.1007/978-3-030-59261-5_9

86. King, A.M. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Volume 9 / A.M. King, E. Lefkowitz, M.J. Adams [et al.]. – Elsevier; Amsterdam, The Netherlands, 2011.

87. Kolobow, T. An alternative to breathing / T. Kolobow, L. Gattinoni, T. Tomlinson [et al.] // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* – 1978. – Vol.

75, № 2. – P. 261-266.

88. Koster, A. Impact of heparin-induced thrombocytopenia on outcome in patients with ventricular assist device support: single-institution experience in 358 consecutive patients / A. Koster, S. Huebler, E. Potapov [et al.] // *The Annals of thoracic surgery*. – 2007. – Vol. 83, № 1. – P. 72-76.

89. Koster, A. Traditional and non-traditional anticoagulation management during extracorporeal membrane oxygenation / A. Koster, E. Ljajikj, D. Faraoni // *Annals of cardiothoracic surgery*. – 2019. – Vol. 8, № 1. – P. 129-136. – doi: 10.21037/acs.2018.07.03

90. Kowalewski, M. COVID-19 and ECMO: the interplay between coagulation and inflammation-a narrative review / M. Kowalewski, D. Fina, A. Słomka [et al.] // *Crit Care*. – 2020. – Vol. 24, № 1. – P. 205. – doi: 10.1186/s13054-020-02925-3

91. Levi, M. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19 / M. Levi, J. Thachil, T. Iba [et al.] // *The Lancet Haematology*. – 2020. – Vol. 7, № 6. – P. e438-e440. – doi: 10.1016/s2352-3026(20)30145-9

92. Levi, M. Coagulation and sepsis / M. Levi, T. van der Poll [et al.] // *Thromb Res*. – 2017. – Vol. 149. – P. 38-44. – doi: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2016.11.007>

93. Levine, M.N. A randomized trial comparing activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin / M.N. Levine, J. Hirsh, M. Gent [et al.] // *Archives of internal medicine*. – 1994. – Vol. 154, № 1. – P. 49-56.

94. Levy, J.H. Antithrombin: anti-inflammatory properties and clinical applications / J.H. Levy, R.M. Sniecinski, I.J. Welsby [et al.] // *Thromb Haemostasis*. – 2016. – Vol. 115, № 4. – P. 712-728. – doi: 10.1160/TH15-08-0687

95. Li, J. Epidemiology of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of clinical characteristics, risk factors, and outcomes / J. Li, D.Q. Huang, B. Zou [et al.] // *J Med Virol*. – 2021. – Vol. 93, № 3. – P. 1449-1458. – doi: 10.1002/jmv.26424

96. Libby, P. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease / P. Libby, T. Lüscher // *European heart journal*. – 2020. – Vol. 41, № 32. – P. 3038-3044. – doi: 10.1093/eurheartj/ehaa623

97. Lim, J.K.B. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure during respiratory epidemics and pandemics: A narrative review / J.K.B. Lim, S.K. Qadri, T.S.W. Toh [et al.] // *Ann Acad Med Singapore*. – 2020. – Vol. 49, № 4. – P. 1-34.
98. Lim, M.W. The history of extracorporeal oxygenators / M.W. Lim / [et al.] // *Anaesthesia*. – 2006. – Vol. 61, № 10. – P. 984-995. – doi:10.1111/j.1365-2044.2006.04781.x
99. Lorusso, R. ECMO for COVID-19 patients in Europe and Israel / R. Lorusso, A. Combes, V.L. Coco [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2021. – Vol. 47, № 3. – P. 344-348.
100. Lu, R. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding / R. Lu, X. Zhao, J. Li [et al.] // *The lancet*. – 2020. – Vol. 395, № 10224. – P. 565-574. – doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8
101. Magro, C. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases / C. Magro, J.J. Mulvey, D. Berlin [et al.] // *Translational Research*. – 2020. – Vol. 220. – P. 1-13. – doi: 10.1016/j.trsl.2020.04.007
102. Makatsariya, A. COVID-19, neutrophil extracellular traps and vascular complications in obstetric practice / A. Makatsariya, E. Slukhanchuk, V. Bitsadze [et al.] // *Journal of perinatal medicine*. – 2020. – Vol. 48, № 9. – P. 985-994. doi: 10.1515/jpm-2020-0280
103. Makdisi, G. Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) review of a lifesaving technology / G. Makdisi, I. Wang // *J Thorac Dis*. – 2015. – Vol. 7, № 7. – P. E166-E176. – doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.07.17
104. Mang, S. Extracorporeal life support in COVID-19-related acute respiratory distress syndrome: a EuroELSO international survey / S. Mang, A. Kalenka, L.M. Broman [et al.] // *Artif Organs*. – 2021. – Vol. 45, № 5. – P. 495-505.
105. McGonagle, D. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia / D. McGonagle, J.S. O'Donnell, K. Sharif [et

al.] // *The Lancet Rheumatology*. – 2020. – Vol. 2, № 7. – P. e437-e445. – doi: 10.1016/S2665-9913(20)30121-1

106. McIntosh, K. Growth in suckling-mouse brain of "IBV-like" viruses from patients with upper respiratory tract disease / K. McIntosh, W.B. Becker, R.M. Chanock // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1967. – Vol. 58, № 6. – P. 2268-2273. – doi: 10.1073/pnas.58.6.2268

107. Mugford, M. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure in newborn infants / M. Mugford, D. Elbourne, D. Field // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2008. – Vol, 3. – P. CD001340. – doi: 10.1002/14651858.CD001340.pub2

108. Mulder, M. ECMO and anticoagulation: a comprehensive review / M. Mulder, I. Fawzy, M. Lance // *Neth J Crit Care*. – 2018. – Vol. 26, № 1. – P. 6-13.

109. Murphy, D.A. Extracorporeal membrane oxygenation-hemostatic complications / D.A. Murphy, L.E. Hockings, R.K. Andrews [et al.] // *Transfus Med Rev*. – 2015. – Vol. 29, № 2. – P. 90-101. – doi: 10.1016/j.tmr.2014.12.001

110. Netley, J. Bivalirudin Anticoagulation Dosing Protocol for Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Retrospective Review / J. Netley, J. Roy, J. Greenlee [et al.] // *J Extra Corpor Technol*. – 2018. – Vol. 50, № 3. – P. 161-166.

111. Nichol, G. Systematic review of percutaneous cardiopulmonary bypass for cardiac arrest or cardiogenic shock states / G. Nichol, R. Karmy-Jones, C. Salerno [et al.] // *Resuscitation*. – 2006. – Vol. 70, № 3. – P. 381-394. – doi: 10.1016/j.resuscitation.2006.01.018

112. Nixon, P. COVID-19: A new challenge for ECMO / P. Nixon, W. Butt // *Perfusion*. – 2021. – Vol. 36, № 6. – P. 573-574. – doi:10.1177/0267659120986760

113. Noah, M.A. Referral to an extracorporeal membrane oxygenation center and mortality among patients with severe 2009 influenza A (H1N1) / M.A. Noah, G.J. Peek, S.J. Finney [et al.] // *Jama*. – 2011. – Vol. 306, № 15. – P. 1659-1668. – doi: 10.1001/jama.2011.1471

114. Panigada, M. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: a report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis / M.

Panigada, N. Bottino, P. Tagliabue [et al.] // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2020. – Vol. 18, № 7. – P. 1738-1742.

115. Payares-Herrera, C. Double-blind, randomized, controlled, trial to assess the efficacy of allogenic mesenchymal stromal cells in patients with acute respiratory distress syndrome due to COVID-19 (COVID-AT): a structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial / C. Payares-Herrera, M.E. Martínez-Muñoz, I.L. Vallhonrat [et al.] // *Trials*. – 2021. – Vol. 22, № 1. – P. 9. – doi: 10.1186/s13063-020-04964-1

116. Peek, G.J. Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): a multicentre randomised controlled trial / G.J. Peek, M. Mugford, R. Tiruvoipati [et al.] // *The Lancet*. – 2009. – Vol. 374, № 9698. – P. 1351-1363. – doi: 10.1016/S0140-6736(09)61069-2

117. Petrey, A.C. Cytokine release syndrome in COVID-19: Innate immune, vascular, and platelet pathogenic factors differ in severity of disease and sex / A.C. Petrey, F. Qeadan, E.A. Middleton [et al.] // *J Leukoc Biol*. – 2021. – Vol. 109, № 1. – P. 55-66. – doi: 10.1002/JLB.3COVA0820-410RRR

118. Petrosillo, N. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? / N. Petrosillo, G. Viceconte, O. Ergonul [et al.] // *Clinical microbiology and infection*. – 2020. – Vol. 26, № 6. – P. 729-734. – doi: 10.1016/j.cmi.2020.03.026

119. Pillay, T.S. Gene of the month: the 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel coronavirus spike protein / T.S. Pillay // *J Clin Pathol*. – 2020. – Vol. 73, № 7 – P. 366-369. - doi: 10.1136/jclinpath-2020-206658

120. Polastri, M. COVID-19 and pulmonary rehabilitation: preparing for phase three / M. Polastri, S. Nava, E. Clini [et al.] // *Eur Respir J*. 2020. – Vol. 55, № 6. – P. 2001822.

121. Poon, W.H. Prone positioning during venovenous extracorporeal membrane oxygenation for acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis / W.H. Poon, K. Ramanathan, R.R. Ling [et al.] // *Critical Care*. – 2021. – Vol. 25, № 1. – P. 292. – doi: 10.1186/s13054-021-03723-1

122. Pravda, N.S. Extracorporeal membrane oxygenation therapy in the COVID-

19 pandemic / N.S. Pravda, M.S. Pravda, R. Kornowski [et al.] // *Future Cardiol.* – 2020. – Vol. 16, № 6. – P. 543-546. – doi: 10.2217/fca-2020-0040

123. Protti, A. Anticoagulation management and antithrombin supplementation practice during veno-venous extracorporeal membrane oxygenation: a worldwide survey / A. Protti, G.E. Iapichino, M. Di Nardo [et al.] // *Anesthesiology.* – 2020. – Vol. 132, № 3. – P. 562-570. – doi: 10.1097/ALN.0000000000003044

124. Qu, R. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19 / R. Qu, Y. Ling, Y.H. Zhang [et al.] // *J Med Virol.* – 2020. – Vol. 92, № 9. – P. 1533-1541. – doi:10.1002/jmv.25767

125. Ramachandran, P. Red blood cell distribution width (RDW) in Hospitalized COVID-19 Patients / P. Ramachandran, M. Gajendran, A. Perisetti [et al.] // *Front Med (Lausanne).* – 2021. – Vol. 8. – P. 582403. – doi: 10.3389/fmed.2021.582403

126. Ramanathan, K. Blood transfusion strategies and ECMO during the COVID-19 pandemic – authors' reply / K. Ramanathan, G. MacLaren, A. Combes [et al.] // *Lancet Respir Med.* – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. e41.

127. Ramanathan, K. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19: a systematic review and meta-analysis / K. Ramanathan, K. Shekar, R.R. Ling [et al.] // *Critical Care.* – 2021. – Vol. 25, № 1. – P. 211. – doi: 10.1186/s13054-021-03634-1

128. Ramanathan, K. Planning and provision of ECMO services for severe ARDS during the COVID-19 pandemic and other outbreaks of emerging infectious diseases / K. Ramanathan, D. Antognini, A. Combes [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine.* – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. 518-526. – doi: 10.1016/S2213-2600(20)30121-1

129. Ranucci, M. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome / M. Ranucci, A. Ballotta, U. Di Dedda [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2020. – Vol. 18, № 7. – P. 1747-1751. – doi: 10.1111/jth.14854

130. Ratnani, I. The role and impact of extracorporeal membrane oxygenation in critical care / I. Ratnani, D. Tuazon, A. Zainab [et al.] // *Methodist DeBakey cardiovascular journal.* – 2018. – Vol. 14, № 2. – P. 110-119. – doi: 10.14797/mdcj-14-2-110

131. Reeves, T. MERS-CoV geography and ecology in the Middle East: analyses

of reported camel exposures and a preliminary risk map / T. Reeves, A.M. Samy, A.T. Peterson // BMC research notes. – 2015. – Vol. 8, № 1. – P. 801. – doi: 10.1186/s13104-015-1789-1

132. Rivellese, F. ACE2 at the centre of COVID-19 from paucisymptomatic infections to severe pneumonia / F. Rivellese, E. Prediletto // Autoimmunity reviews. – 2020. – Vol. 19, № 6. – P. 102536. – doi: 10.1016/j.autrev.2020.102536

133. Rokni, M. Comparison of clinical, para-clinical and laboratory findings in survived and deceased patients with COVID-19: diagnostic role of inflammatory indications in determining the severity of illness / M. Rokni, K. Ahmadikia, S. Asghari [et al.] // BMC Infect Dis. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 869. – doi: 10.1186/s12879-020-05540-3

134. Ruan, Q. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China / Q. Ruan, K. Yang, W. Wang [et al.] // Intensive care medicine. – 2020. – Vol. 46, № 5. – P. 846-848. – doi: 10.1007/s00134-020-05991-x

135. Sarkar, S. Role of platelet-to-lymphocyte count ratio (PLR), as a prognostic indicator in COVID-19: A systematic review and meta-analysis / S. Sarkar, S. Kannan, P. Khanna [et al.] // J Med Virol. – 2022. – Vol. 94, № 1. – P. 211-221. – doi: 10.1002/jmv.27297

136. Schmidt, M. Extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory distress syndrome associated with COVID-19: a retrospective cohort study / M. Schmidt, D. Hajage, G. Lebreton [et al.] // The Lancet Respiratory Medicine. – 2020. – Vol. 8, № 11. – P. 1121-1131.

137. Schönrich, G. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression / G. Schönrich, M.J. Raftery, Y. Samstag // Advances in biological regulation. – 2020. – Vol. 77. – P. 100741. – doi: 10.1016/j.jbior.2020.100741

138. Schwameis, M. VWF excess and ADAMTS13 deficiency: a unifying pathomechanism linking inflammation to thrombosis in DIC, malaria, and TTP / M. Schwameis, C. Schörghofer, A. Assinger [et al.] // Thrombosis and haemostasis. –

2015. – Vol. 113, № 04. – P. 708-718. – doi: 10.1160/th14-09-0731

139. Seelhammer, T.G. COVID-19 and ECMO: An Unhappy Marriage of Endothelial Dysfunction and Hemostatic Derangements / T.G. Seelhammer, D. Plack, A. Lal [et al.] // *J Cardiothorac Vasc Anesth.* – 2020. – Vol. 34, № 12. – P. 3193-3196. – doi: 10.1053/j.jvca.2020.09.132

140. Seyit, M. Neutrophil to lymphocyte ratio, lymphocyte to monocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio to predict the severity of COVID-19 / M. Seyit, E. Avci, R. Nar [et al.] // *Am J Emerg Med.* – 2021. – Vol. 40. – P. 110-114. – doi: 10.1016/j.ajem.2020.11.058.

141. Shoenfeld, Y. Corona (COVID-19) time musings: our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning / Y. Shoenfeld // *Autoimmunity reviews.* – 2020. – Vol. 19, № 6. – P. 102538. – doi: 10.1016/j.autrev.2020.102538

142. Siddiqi, H.K. COVID-19 – A vascular disease / H.K. Siddiqi, P. Libby, P.M. Ridker // *Trends Cardiovasc Med.* – 2021. – Vol. 31, № 1. – P. 1-5. – doi: 10.1016/j.tcm.2020.10.005

143. Sims, J.T. Characterization of the cytokine storm reflects hyperinflammatory endothelial dysfunction in COVID-19 / J.T. Sims, V. Krishnan, C.Y. Chang [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2021. – Vol. 147, № 1. – P. 107-111. – doi: 10.1016/j.jaci.2020.08.031

144. Smereka, J. Extracorporeal membrane oxygenation in COVID-19 / J. Smereka, M. Puslecki, K. Ruetzler [et al.] // *Cardiol J.* – 2020. – Vol. 27, № 2. – P. 216-217. – doi: 10.5603/CJ.a2020.0053

145. Soni, M. Significance of RDW in predicting mortality in COVID-19-An analysis of 622 cases / M. Soni, R. Gopalakrishnan // *Int J Lab Hematol.* – 2021. – Vol. 43, № 4. – P. O221-O223. – doi: 10.1111/ijlh.13526

146. Sromicki, J. ECMO therapy in COVID-19: An experience from Zurich / J. Sromicki, M. Schmiady, F. Maisano [et al.] // *J Card Surg.* – 2021. – Vol. 36, № 5. – P. 1707-1712. – doi: 10.1111/jocs.15147.

147. Summary of probably SARS cases with onset of illness from 1 November

2002 to 31 July 2003 [Электронный ресурс] // World Health Organization Epidemic and Pandemic Alert Response. – 2003. – Режим доступа: http://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/index.html.

148. Swol, J. Extubate before venovenous extracorporeal membranous oxygenation decannulation or decannulate while remaining on the ventilator? the EuroELSO 2019 Weaning Survey / J. Swol, K. Shekar, A. Protti [et al.] // ASAIO J. – 2021. – Vol. 67, № 4. – P. e86-89.

149. Swol, J. Tracheostomy as a bridge to spontaneous breathing and awake-ECMO in non-transplant surgical patients / J. Swol, J.T. Strauch, T.A. Schildhauer [et al.] // Eur J Heart Fail. – 2017. – Vol. 19, № 2. – P. 120-123.

150. Taccone, F.S. Higher intensity thromboprophylaxis regimens and pulmonary embolism in critically ill coronavirus disease 2019 patients / F.S. Taccone, P.A. Gevenoio, L. Peluso [et al.] // Critical care medicine. – 2020. – Vol. 48, № 11. – P. e1087-e1090. – doi: 10.1097/CCM.00000000000004548

151. Talasaz, A.H. Cardiovascular Complications of COVID-19: Pharmacotherapy Perspective / A.H. Talasaz, H. Kakavand, B. Van Tassell [et al.] // Cardiovasc Drugs Ther. – 2021. – Vol. 35, № 2. – P. 249-259. – doi: 10.1007/s10557-020-07037-2

152. Tang, N. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia / N. Tang, D. Li, X. Wang [et al.] // Journal of thrombosis and haemostasis. – 2020. – Vol. 18, № 4. – P. 844-847. – doi: 10.1111/jth.14768

153. Thachil, J. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19 / J. Thachil, N. Tang, S. Gando [et al.] // J. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 18, № 5. – P. 1023–1026. – doi: 10.1111/jth.14810

154. The 3rd Chinese Society of Extracorporeal Life Support Annual Meeting [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://csecls2019.medmeeting.org/8735?lang=cn>

155. Tillmann, B.W. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) as a treatment strategy for severe acute respiratory distress syndrome (ARDS) in the low tidal

volume era: A systematic review / B.W. Tillmann, M.L. Klingel, A.E. Iansavichene [et al.] // *J Crit Care.* – 2017. – Vol. 41. – P. 64-71. – doi: 10.1016/j.jcrc.2017.04.041

156. Tsujimoto, H. Pharmacological interventions for preventing clotting of extracorporeal circuits during continuous renal replacement therapy / H. Tsujimoto, Y. Tsujimoto, Y. Nakata [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2020. – Vol. 3, № 3. – P. CD012467. – doi: 10.1002/14651858.CD012467.pub2

157. Van Doremalen, N. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1 / N. Van Doremalen, T. Bushmaker, D.H. Morris [et al.] // *New England journal of medicine.* – 2020. – Vol. 382, № 16. – P. 1564-1567. – doi: 10.1056/NEJMc2004973

158. Varga, Z. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395, № 10234. – P. 1417-1418. – doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5

159. Verkoyen, K. The effects of propofol and isoflurane sedation on the outcomes of surgical patients receiving extracorporeal membrane oxygenation / K. Verkoyen, T.A. Schildhauer, J.T. Strauch [et al.] // *ASAIO J.* – 2017. – Vol. 63, № 2. – P. 174-178.

160. Vieira, J. Extracorporeal membrane oxygenation in transport part 2: Complications and troubleshooting / J. Vieira, M. Frakes, J. Cohen [et al.] // *Air Med J.* – 2020. – Vol. 39, № 2. – P. 124-132.

161. Vogel, J.P. Clinical care of pregnant and postpartum women with COVID-19: Living recommendations from the National COVID-19 Clinical Evidence Taskforce / J.P. Vogel, B. Tendal, M. Giles [et al.] // *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology.* – 2020. – Vol. 60, № 6. – P. 840-851. – doi: 10.1111/ajo.13270

162. Wang, H. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway / H. Wang, P. Yang, K. Liu [et al.] // *Cell research.* – 2008. – Vol. 18, № 2. – P. 290-301. – doi: 10.1038/cr.2008.15

163. Wang, M. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet / M. Wang, M. Yan, H. Xu [et al.] // *Emerging infectious diseases.* – 2005. – Vol. 11, № 12. – P.

1860. – doi: 10.3201/eid1112.041293

164. Wang, Y.T. Spiking pandemic potential: structural and immunological aspects of SARS-CoV-2 / Y.-T. Wang, S. Landeras-Bueno, L.-E. Hsieh [et al.] // *Trends in Microbiology*. – 2020. – Vol. 28, № 8. – P. 605-618. – doi: 10.1016/j.tim.2020.05.012

165. Whitelaw, S. Applications of digital technology in COVID-19 pandemic planning and response / S. Whitelaw, M. Mamas, E. Topol [et al.] // *The Lancet Digital Health*. – 2020. – Vol. 2, № 8. – P. e435-e440. – doi: 10.1016/S2589-7500(20)30142-4

166. Wo, Y. Recent advances in thromboresistant and antimicrobial polymers for biomedical applications: just say yes to nitric oxide (NO) / Y. Wo, E.J. Brisbois, R.H. Bartlett [et al.] // *Biomaterials science*. – 2016. – Vol. 4, № 8. – P. 1161-1183.

167. Wong, T.E. Antithrombin concentrate use in pediatric extracorporeal membrane oxygenation: A multicenter cohort study / T.E. Wong, T. Nguyen, S.S. Shah [et al.] // *Pediatr Crit Care Med*. – 2016. – Vol. 17, № 12. – P. 1170-1178. – doi: 10.1097/PCC.0000000000000955

168. Wu, Y. A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2 / Y. Wu, F. Wang, C. Shen [et al.] // *Science*. – 2020. – Vol. 368, № 6496. – P. 1274-1278. – doi: 10.1126/science.abc2241

169. Xu, Z. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome / Z. Xu, L. Shi, Y. Wang [et al.] // *The Lancet respiratory medicine*. – 2020. – Vol. 8, № 4. – P. 420-422. – doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X

170. Yang, A.P. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients / A.P. Yang, J.P. Liu, W.Q. Tao [et al.] // *Int Immunopharmacol*. – 2020. – Vol. 84. – P. 106504. – doi: 10.1016/j.intimp.2020.106504

171. Yang, P. COVID-19: a new challenge for human beings / P. Yang, X. Wang // *Cellular & molecular immunology*. – 2020. – Vol. 17, № 5. – P. 555-557. – doi: 10.1038/s41423-020-0407-x

172. Yang, Z. Predictors for imaging progression on chest CT from coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients / Z. Yang, J. Shi, Z. He [et al.] // *Aging (Albany NY)*. – 2020. – Vol. 12, № 7. – P. 6037-6048. – doi: 10.18632/aging.102999

173. Yao, H. Molecular architecture of the SARS-CoV-2 virus / H. Yao, Y. Song,

Y. Chen [et al.] // *Cell*. – 2020. – Vol. 183, № 3. – P. 730-738.e13. – doi: 10.1016/j.cell.2020.09.018

174. Yao, T.T. A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus—A possible reference for coronavirus disease-19 treatment option / T.T. Yao, J.D. Qian, W.Y. Zhu [et al.] // *Journal of medical virology*. – 2020. – Vol. 92, № 6. – P. 556-563. – doi: 10.1002/jmv.25729

175. Yao, Y. D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study / Y. Yao, J. Cao, Q. Wang [et al.] // *Journal of intensive care*. – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 49. – doi: 10.1186/s40560-020-00466-z

176. Yuriditsky, E. Thromboelastography profiles of critically ill patients with coronavirus disease 2019 / E. Yuriditsky, J.M. Horowitz, C. Merchan [et al.] // *Critical care medicine*. – 2020. – Vol. 48. – P. 1319-1326.

177. Yusuff, H. Thrombosis and coagulopathy in COVID-19 patients receiving ECMO: A narrative review of current literature / H. Yusuff, V. Zochios, D. Brodie // *J Cardiothorac Vasc Anesth*. – 2022. – Vol. 36, № 8 (Pt B). – P. 3312-3317. – doi: 10.1053/j.jvca.2022.03.032

178. Zaki, A.M. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia / A.M. Zaki, S. Van Boheemen, T.M. Bestebroer [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2012. – Vol. 367, № 19. – P. 1814-1820. – doi: 10.1056/NEJMoa1211721

179. Zapol, W.M. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure: a randomized prospective study / W.M. Zapol, M.T. Snider, J.D. Hill [et al.] // *Jama*. – 1979. – Vol. 242, № 20. – P. 2193-2196. – doi: 10.1001/jama.242.20.2193

180. Zhai, Z. Prevention and treatment of venous thromboembolism associated with coronavirus disease 2019 infection: a consensus statement before guidelines / Z, Zhai, C, Li, Y, Chen [et al.] // *Thrombosis and haemostasis*. – 2020. – Vol. 120, № 06. – P. 937-948. – doi: 10.1055/s-0040-1710019

181. Zhang, Y. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19 / Y. Zhang, M. Xiao, S. Zhang [et al.] // *New England Journal of Medicine*. –

2020. – Vol. 382, № 17. – P. e38. – doi: 10.1056/nejmc2007575

182. Zhong, N.S. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003 / N. Zhong, B. Zheng, Y. Li [et al.] // *The Lancet*. – 2003. – Vol. 362, № 9393. – P. 1353-1358. – doi: 10.1016/S0140-6736(03)14630-2

183. Zhou, P. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin / P. Zhou, X.-L. Yang, X.-G. Wang [et al.] // *nature*. – 2020. – Vol. 579, № 7798. – P. 270-273. – doi: 10.1038/s41586-020-2012-7

184. Ziats, N.P. Adsorption of Hageman factor (factor XII) and other human plasma proteins to biomedical polymers / N.P. Ziats, D.A. Pankowsky, B.P. Tierney [et al.] // *J Lab Clin Med*. – 1990. – Vol. 116, № 5. – P. 687-696.

185. Ziegler, T.R. Amino acid concentrations in HIV-infected youth compared to healthy controls and associations with CD4 counts and inflammation / T.R. Ziegler, S.E. Judd, J.H. Ruff / [et al.] // *AIDS Research and Human retroviruses*. – 2017. – Vol. 33, № 7. – P. 681-689.

186. Zuo, Y. Antiphospholipid syndrome: a clinical perspective / Y. Zuo, H. Shi, C. Li [et al.] // *Chinese Medical Journal*. – 2020. – Vol. 133, № 08. – P. 929-940. – doi: 10.1097/CM9.0000000000000705

187. Zuo, Y. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 / Y. Zuo, S. Yalavarthi, H. Shi [et al.] // *JCI insight*. – 2020. – Vol. 5, № 11. – doi: 10.1101/2020.04.09.20059626