

О.Б. Гордеева^{1, 2}, Л.С. Намазова-Баранова^{1, 2},
А.В. Доброток¹, Н.Л. Алешенко¹



¹Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского,
Москва, Российская Федерация

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

Исследование агрегационной функции тромбоцитов у детей, перенесших COVID-19. Первые результаты одномоментного проспективного исследования

Обоснование. Есть данные, свидетельствующие, что дисфункция тромбоцитов при коронавирусной инфекции нового типа может приводить как к тромботическим, так и к геморрагическим событиям. Синдром гиперкоагуляции, приводящий к тромбозам, является одним из самых грозных осложнений COVID-19; не менее важен и геморрагический синдром, который может наблюдаться после данного заболевания. Исследование агрегационной функции тромбоцитов у детей, переболевших коронавирусной инфекцией нового типа, крайне актуально: уроки пандемии в настоящее время широко обсуждаются в научном сообществе во всем мире, и результаты агрегатометрии могут помочь спрогнозировать развитие осложнений со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. **Цель исследования** — оценить направленность изменений тромбоцитарного звена гемостаза у детей, перенесших COVID-19. **Методы.** На первом этапе работы были уточнены нормативные значения агрегации тромбоцитов у детей с различными индукторами в цельной крови импедансным методом (на основании данных обследования 105 условно здоровых детей, не болевших COVID-19). На втором (основном) этапе проведено сплошное одномоментное проспективное исследование, в которое включено 250 пациентов детского возраста, проживающих на территории Российской Федерации. Группу пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме, составили 143 ребенка, группу сравнения — 107 пациентов, не болевших коронавирусной инфекцией нового типа. Всем детям (перенесшим COVID-19 и неболевшим) было проведено комплексное обследование, которое включало: физикальный осмотр, агрегатометрию и лабораторные методы исследования (для исключения острого воспалительного процесса, а также отклонений в гемограмме, потенциально влияющих на показатели агрегации тромбоцитов). **Результаты.** Почти у половины пациентов после перенесенного COVID-19 наблюдаются нарушения в агрегационной функции тромбоцитов. При этом у каждого третьего ребенка отмечены сочетанные разнонаправленные нарушения в виде гипо- и гиперагрегации с различными индукторами, в отличие от группы детей, не болевших COVID-19 ($p < 0,05$). В группе COVID-19 чаще всего выявлялись нарушения при агрегации с арахидоновой кислотой: почти у каждого второго пациента — гиперагрегация, у каждого четвертого — гипоагрегация, что статистически значимо отличалось от группы неболевших ($p < 0,05$). Анализ результатов в зависимости от временного интервала после перенесенного заболевания (1–3 мес, 3–6, 6–12, более 12 мес) продемонстрировал гиперагрегацию тромбоцитов со всеми индукторами в интервале 1–3 мес; в дальнейшем наблюдалась тенденция к снижению агрегации с тромбином и АДФ, однако с арахидоновой кислотой гиперагрегация сохранялась на протяжении года после заболевания. В интервале более года после COVID-19 у каждого второго пациента отмечалось снижение функции тромбоцитов (гипоагрегация со всеми индукторами). При этом статистически значимых отличий по половому признаку в зависимости от временного интервала после перенесенной инфекции выявлено не было. **Заключение.** Результаты исследования демонстрируют векторы нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у детей, перенесших COVID-19 в легкой форме (определены временные интервалы нарушений функций тромбоцитов после заболевания), и могут помочь разработать стратегию наблюдения за детьми, перенесшими коронавирусную инфекцию нового типа, для предупреждения развития осложнений со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Ключевые слова: COVID-19, агрегация тромбоцитов, гиперагрегация, гипоагрегация, агрегатометрия, дети, референсные интервалы, тромбоциты, гемостаз

Для цитирования: Гордеева О.Б., Намазова-Баранова Л.С., Доброток А.В., Алешенко Н.Л. Исследование агрегационной функции тромбоцитов у детей, перенесших COVID-19. Первые результаты одномоментного проспективного исследования. *Вестник РАМН.* 2024;79(3):223–233. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn12777>

Обоснование

В настоящее время известно, что одним из основных звеньев дисбаланса свертывающей системы при коронавирусной инфекции нового типа является нарушение коагуляции, которое может реализовываться клиническими проявлениями геморрагического, цитопенического или тромбогеморрагического синдромов. Поражение

микроциркуляторного русла играет важную роль в патогенезе COVID-19 (Coronavirus Infectious Disease 2019) [1].

На данный момент наибольшую роль в развитии гиперкоагуляции у пациентов с коронавирусной инфекцией нового типа отводят нарушениям в тромбоцитарном звене гемостаза — базовом звене свертывающей системы [2]. Ряд исследователей публикует данные о том, что у детей при COVID-19 наблюдалась повышенная активация

тромбоцитов, что, в свою очередь, способствовало образованию тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов. Эти сведения позволяют предположить наличие дисфункции тромбоцитов при коронавирусной инфекции нового типа у детей [3]. Есть исследования, подтверждающие нарушения функции тромбоцитов (тромбовоспалительный процесс с участием клеток иммунной системы) у данной группы пациентов при COVID-19, наиболее выраженные — при тяжелом или критическом течении заболевания [4].

Вирус SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) способен инициировать провоспалительный иммунный ответ, активирующий свертывающую систему крови. С одной стороны, противовирусный ответ связан с высвобождением про- и противовоспалительных цитокинов: макрофагального (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF), гранулоцитарного (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, MG-CSF) колониестимулирующих факторов, интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13), которые участвуют в активации клеток, некоторые из них прямо или косвенно могут активировать тромбоциты. С другой стороны, при вирусной инфекции происходит стимуляция нейтрофильного ряда лейкоцитов, представляющих собой первую линию защиты организма. Они мигрируют к очагу воспаления для борьбы с инфекцией и продуцируют активные формы кислорода, интер-

лейкины, хемокины, гидролитические протеазы, а также формируют нейтрофильные внеклеточные «ловушки» (neutrophil extracellular traps, NETs) [5]. Процесс образования NETs — NETosis — может быть вызван различными индукторами (микроорганизмами, бактериальными компонентами, активированными тромбоцитами, системой комплемента, аутоантителами, интерлейкинами и т.д.). Механизм NETosis заключается в том, что отрицательно заряженная ДНК обеспечивает каркас для компонентов ловушки. В результате нейтрофилы теряют гетерохроматические области ядра, происходит деконденсация хроматина, ядерная оболочка растворяется, разрушаются митохондрии и содержимое клетки выбрасывается наружу через перфорированную цитоплазматическую мембрану, что способствует поглощению патогенов фагоцитами. Кроме того, нейтрофильные ловушки играют фундаментальную роль для прокоагулянтных эффекторов, состоящих из тромбоцитов, фактора фон Виллебранда, тканевого фактора, внеклеточных гистонов, сериновых протеаз нейтрофильных клеток и фибриногена [6]. Было также показано, что внеклеточные ловушки нейтрофилов связываются с фактором XII (фактор Хагемана), что приводит к его активации [7].

В ряде научных исследований выявлено, что SARS-CoV-2 напрямую потенцирует нейтрофилы и NETosis. Об этом свидетельствуют увеличенные концентрации интерлейкинов (IL-8, IL-1 β , фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF- α) и IL-6), а также присутствие

O.B. Gordeeva^{1, 2}, L.S. Namazova-Baranova^{1, 2}, A.V. Dobrotok¹, N.L. Aleshchenko¹

¹Academician B.V. Petrovsky Russian Scientific Center for Surgery, Moscow, Russian Federation

²Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russian Federation

Study of Platelet Aggregation Function in Children Undergoing COVID-19. Initial Results

Background. There is evidence that platelet dysfunction in new-type coronavirus infection can lead to both thrombotic and hemorrhagic events: hypercoagulation syndrome leading to thrombosis is one of the most threatening complications of COVID-19; equally important is the hemorrhagic syndrome that can be observed after this disease. The study of platelet aggregation function in children with new-onset coronavirus infection is highly relevant: the results of aggregometry in pediatric practice may help to predict the development of complications from vascular and platelet hemostasis. **Aims** — to evaluate the direction of changes in platelet haemostasis in children undergoing COVID-19. **Methods.** In the first phase of the work, we clarified the normal values of platelet aggregation in children with different inducers in whole blood by impedance testing (based on examination data from 105 conditionally healthy children who had not had COVID-19). At the second (main) phase of the study we conducted a single-stage prospective study including 250 pediatric patients residing in the Russian Federation: 143 children suffered mild COVID-19, while the comparison group consisted of 107 patients who had not been ill with a new-type coronavirus infection. All children (those who had COVID-19 and those who had no disease) underwent a comprehensive examination, which included: physical examination, aggregometry and laboratory tests (to rule out acute inflammatory process and hemogram abnormalities potentially affecting platelet aggregation rates). **Results.** Almost half of the patients after COVID-19 had platelet aggregation abnormalities. At the same time, in every third child there were combined multidirectional disorders in the form of hypo- and hyperaggregation with different inducers, in contrast to the group of children who did not have COVID-19 ($p < 0.05$). In the COVID-19 group aggregation abnormalities with arachidonic acid were most frequently detected: almost every second patient had hyperaggregation and every fourth patient had hypoaggregation, which was statistically significantly different from the non-disease group ($p < 0.05$). Analysis of the results depending on the time interval after the disease (1–3 months, 3–6, 6–12 months, more than 12 months) showed platelet hyperaggregation with all inducers at 1–3 months, and there was a tendency to reduce aggregation with thrombin and ADP, but hyperaggregation with arachidonic acid persisted for one year after the disease. At an interval of more than one year after COVID-19 every second patient showed a decrease in platelet function (hypoaggregation with all inducers). No statistically significant differences by gender were observed depending on the time interval after the infection. **Conclusions.** The results of the study demonstrate the vectors of impaired vascular and platelet hemostasis in children with mild COVID-19: The time intervals of platelet dysfunction after the disease have been determined. The results of the study may help to develop a surveillance strategy for children who have had a new type of coronavirus infection to prevent the development of complications from vascular and platelet hemostasis.

Keywords: COVID-19, platelet aggregation, hyperaggregation, hypoaggregation, aggregometry, children, reference intervals, platelets, hemostasis

For citation: Gordeeva OB, Namazova-Baranova LS, Dobrotok AV, Leshchenko NL. Study of Platelet Aggregation Function in Children Undergoing COVID-19. Initial Results. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2024;79(3):223–233. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn12777>

инфильтрированных нейтрофилов в тканях у пациентов с COVID-19.

NETosis при COVID-19 подтверждается наличием микроваскулярных тромбов, содержащих множество нейтрофилов с внеклеточными ловушками нейтрофилов [6, 7].

Известно, что при COVID-19 происходит активация тромбоцитов, миелоидных клеток, ангиотензина II, тромбина, дисфункция эндотелия, вирус может оказывать непосредственное воздействие на гемостаз. Активированные тромбоциты, в свою очередь, усиливают воспалительный ответ, стимулируют лейкоциты, что способствует еще большему повреждению тканей. Сформированные тромбоцитарно-нейтрофильные агрегаты усиливают образование NETs, что приводит к выраженным нарушениям коагуляционного равновесия в сторону гиперкоагуляции. Взаимодействие тромбоцитов и фактора фон Виллебранда с нейтрофильными внеклеточными ловушками способно усиливать прокоагулянтную активность эндотелия.

В ряде публикаций представлен подробный обзор механизмов, с помощью которых вирус при COVID-19 может вызывать дисфункции тромбоцитов. Эти механизмы включают проникновение вируса в тромбоциты, иммуноопосредованное разрушение тромбоцитов и эндотелиальную дисфункцию [8].

По данным некоторых публикаций, у детей с COVID-19 отмечается повышенная активация тромбоцитов и агрегация тромбоцитов с лейкоцитами [8]. Это позволяет предположить, что дисфункция тромбоцитов может способствовать патогенетическим изменениям при коронавирусной инфекции нового типа у детей. Повышенная активация тромбоцитов при COVID-19 была подтверждена высвобождением биоактивных веществ из альфа- и плотных гранул, активацией интегрина альфа P β 3 и выделением внеклеточных везикул тромбоцитов. Кроме того, тромбоциты у пациентов с COVID-19 обладают большей адгезией к фибриногену и коллагену, а также более чувствительны к агонистам PAR-1 и P2Y $_{12}$, что приводит к синтезу тромбоксана A $_2$ (TXA $_2$), агрегации и секреции цитокинов [8].

Есть сведения об увеличении образования агрегатов тромбоцитов и лейкоцитов, включающих нейтрофилы, моноциты и CD4+CD8+ Т-лимфоциты у пациентов с COVID-19 [9], формировании агрегатов тромбоцитомоноцитов у пациентов с тяжелым течением COVID-19, сопровождающимся гиперкоагуляцией [9]. Важно отметить, что циркулирующие агрегаты тромбоцитов-моноцитов и тромбоцитов-нейтрофилов у пациентов с тяжелым течением COVID-19 наблюдаются на фоне высокой экспрессии уровней тканевого фактора — основного триггера внутрисосудистого свертывания и тромбоза [9].

Эндотелиальная дисфункция, характеризующаяся дисбалансом в синтезе вазодилатирующих и вазоконстрикторных факторов с преобладанием вазоконстрикции, приводит к снижению периферического кровотока. Нарушение сосудистой функции эндотелия оказывает существенное влияние на тонус и тромбогенность сосудистой стенки, так как вырабатываемые эндотелием нейроромоны могут усугублять функциональное состояние сосудов и сердца. Одним из проявлений системной эндотелиальной дисфункции является повышенная адгезия и агрегация тромбоцитов, так как эндотелий нейтрализует и преобразует вазоактивные субстанции, освобождающиеся при агрегации тромбоцитов, в том числе серотонин и эндопероксиды. Он взаимодействует с продуктами активации тромбоцитов, трансформируя

их, и моделирует тонус гладких мышц, регулируя просвет сосуда [10].

Наличие публикаций, свидетельствующих, что у детей, перенесших COVID-19 тяжелого или критического течения, вероятность нарушений функции тромбоцитов выше в сравнении с детьми, болевшими легкой или среднетяжелой формой, позволяет предполагать, что дисфункция тромбоцитов — важный фактор степени тяжести течения COVID-19 у детей.

В доступных научных источниках также обсуждаются последствия дисфункции тромбоцитов у пациентов с COVID-19 и потенциальные стратегии ведения. В настоящее время предполагается, что инфекция SARS-CoV-2 индуцирует процесс, известный как иммунотромбоз, при котором активированные нейтрофилы и моноциты взаимодействуют с тромбоцитами и каскадом свертывания, приводя к образованию внутрисосудистых сгустков в мелких и крупных сосудах. Микротромботические осложнения могут способствовать развитию острого респираторного дистресс-синдрома и других органных дисфункций. Именно поэтому наиболее перспективными могут стать терапевтические стратегии, направленные на снижение иммунотромбоза. Дисфункция эндотелия является важным патофизиологическим фактором при инфекциях; вирус SARS-CoV-2, вероятно, непосредственно инфицирует эндотелиальные клетки сосудов и приводит к повреждению клеток и апоптозу, тем самым снижая антитромботическую активность нормального эндотелия [11]

Установленные особенности патогенеза COVID-19 дают основания полагать, что более уязвимы для данной инфекции дети с патологией сердечно-сосудистой системы. Однако тяжесть и степень клинических проявлений, кратко- и долгосрочные изменения на фоне коронавирусной инфекции нового типа у таких пациентов в настоящее время тщательно не исследованы. В некоторых публикациях высказаны предположения о том, что активированные макрофаги и другие клетки иммунной системы привлекают в очаг воспаления Т- и В-лимфоциты, которые способны запустить механизм апоптоза кардиомиоцитов с дальнейшей систолической дисфункцией миокарда. Высока вероятность возможного прямого повреждения кардиомиоцитов вирусом SARS-CoV-2 [12]. Эти данные позволяют предполагать высокий риск неблагоприятного исхода у пациентов с отягощенным анамнезом со стороны сердечно-сосудистой системы. В настоящее время отсутствует точная информация об отдаленных последствиях перенесенной инфекции, однако есть свидетельства развития кардиальных осложнений после купирования острой симптоматики COVID-19, а также их возникновения уже после выздоровления. Более поздние последствия влияния вируса на сердечно-сосудистую систему и, в свою очередь, их влияние на долгосрочный прогноз у пациентов с кардиоваскулярной патологией не изучены [13].

У пациентов на фоне COVID-19 может развиваться гиперкоагуляционное состояние, но не коагулопатия потребления, как при диссеминированном внутрисосудистом свертывании и сепсис-индуцированной коагулопатии. По мере прогрессирования заболевания при тяжелом течении может развиваться полиорганная дисфункция, что, в свою очередь, приводит к диссеминированному внутрисосудистому свертыванию [14].

Таким образом, потенциальные клинические последствия дисфункции тромбоцитов, в том числе потенцированные вирусным воздействием, определяют сте-

пень риска развития тромботических и геморрагических осложнений [15]. Изменения функциональных свойств тромбоцитов могут быть выявлены при определении их агрегационной способности с применением различных индукторов, в том числе методом импедансной агрегатометрии в цельной крови.

Агрегация тромбоцитов — одна из главных функций первичного звена гемостаза, которая служит важнейшим показателем реологических свойств крови. Поэтому изменение функционального состояния тромбоцитов не только свидетельствует о состоянии свертывающей системы крови, но и косвенно указывает на функциональные возможности эндотелия. Тромбоциты играют значительную роль в инициации ответа на различные провоспалительные компоненты. В настоящее время известно, что адгезия тромбоцитов может способствовать реализации внутриклеточной сигнализации и активации тромбоцитов в результате дегрануляции. При этом происходят высвобождение аденозиндифосфата (АДФ), образование тромбоксана, активация GP IIb/IIIa (гликопротеина IIb/IIIa) комплекса, появление ионов фосфолипидов, генерация прокоагулянтов из микровезикул. Эти реакции способствуют вовлечению остальных тромбоцитов в процесс агрегации путем опосредованной агрегации с фактором фон Виллебранда и фибриногеном через «мостики» между активированными GP IIb/IIIa рецепторами соседних клеток. В свою очередь, активированные тромбоциты секретируют биологически активные соединения, дополнительно усиливающие их активацию АДФ, ТХА2 (тромбоксан А2), серотонин и др. и способствующие привлечению новых циркулирующих тромбоцитов в зону повреждения. Эти агонисты высвобождаются из внутриклеточных гранул или же синтезируются *de novo* из арахидоновой кислоты, освобождающейся из мембранных фосфолипидов (ТХА2) [16].

Реакция тромбоцитов на тромбин, образующийся в результате активации плазменных факторов свертывающей системы, характеризуется повышенной агрегацией в микроциркуляторном русле. В свою очередь, АДФ и тромбоксан А2 высвобождаются из самих тромбоцитов и/или из поврежденных клеток крови и сосудистой стенки. Взаимодействие этих адгезивных субстратов и растворимых индукторов агрегации со специфическими рецепторами на поверхности тромбоцитов инициирует их активацию. В дальнейшем происходит изменение их морфологии, внутренней структуры. Также тромбоциты способны активироваться и в результате воздействия на них многочисленных эндогенных индукторов из эндотелия сосудистой стенки. Многообразие путей активации тромбоцитов обеспечивает их участие в различных реакциях. При этом они приобретают способность к взаимодействию с фибриногеном. Активированные тромбоциты взаимодействуют с лейкоцитами крови, способствуя их мобилизации в зону повреждения. В этих взаимодействиях ключевую роль играют белки клеточной адгезии — Р-селектин и гликопротеин IIb-IIIa. Также тромбоциты являются источником некоторых хемокинов, привлекающих лейкоциты (RANTES, тромбоцитарный фактор 4 и др.), и цитокинов, вызывающих провоспалительную активацию эндотелиальных клеток. Тромбоциты вовлечены и в процессы заживления (репарации) тканей. Они секретируют факторы роста, стимулирующие пролиферацию гладкомышечных и некоторых других типов клеток.

Метод импедансной агрегатометрии в цельной крови с применением различных индукторов основан на изучении агрегации активированных тромбоцитов

на поверхности электродов. Агрегационная кривая и ее основные параметры рассчитываются автоматически, результат представляет собой измерение величины площади под кривой (AUC). Измерения выполняются в образцах цельной крови, обработанной антикоагулянтами (гирудином, литий-гепарином, цитратом натрия). Использование данного способа позволяет исключить преаналитические погрешности, при этом отсутствуют стадия активации тромбоцитов во время подготовки и необходимость в центрифугировании крови. Доступность стандартизированных активаторов упрощает измерения и, следовательно, позволяет проводить мониторинг функции тромбоцитов быстро и точно [17]. Исследование проводят с использованием различных индукторов агрегации — аденозиндифосфорной кислоты (АДФ), коллагена, арахидоновой кислоты (АК), тромбина, ристомидина и др. [18, 19].

Так, например, агрегация с арахидоновой кислотой (ASPI-тест) сопровождается активацией фосфолипазы и последующим образованием вторичных посредников, мобилизацией внутриклеточного Ca²⁺ и высвобождением арахидоновой кислоты [20].

Действие аденозиндифосфата (АДФ) в качестве индуктора опосредуется через связывание с рецепторами P2Y1 и P2Y12 на мембране тромбоцитов. При взаимодействии тромбоцитов с АДФ происходит первичная кальций-зависимая агрегация. Данный тест используется для обнаружения ингибирования тромбоцитарных рецепторов P2Y1 и P2Y12.

Агрегация с тромбином (TRAP-тест) отражает потенциальную способность тромбоцитов к агрегации. В качестве индуктора выступает пептид (Thrombin Receptor Agonist Peptide), активирующий рецептор тромбина PAR-1 [21].

Референсные значения данных параметров ранее были установлены у взрослых; параметры для детской популяции определены нами ранее на малой выборке пациентов с несколькими стабилизаторами, за исключением гирудина [22].

Потенциальные клинические последствия дисфункции тромбоцитов, в том числе потенцированные вирусным воздействием, определяют степень риска развития тромботических и геморрагических осложнений [15]. Изменения функциональных свойств тромбоцитов могут быть выявлены при определении их агрегационной способности с применением различных индукторов, в том числе методом импедансной агрегатометрии в цельной крови, однако изменения функции тромбоцитов у детей при COVID-19 ранее не изучались. Выявление таких нарушений может помочь уточнить механизмы и последствия заболевания, позволит оптимизировать стратегии ведения пациентов, в том числе у детей с кардиоваскулярной патологией, что подтверждает актуальность проведенного исследования.

Цель исследования — оценить направленность изменений тромбоцитарного звена гемостаза у детей, перенесших COVID-19.

Методы

Дизайн исследования

На первом этапе работы для уточнения нормативных значений агрегации тромбоцитов с различными индукторами в цельной крови (стабилизированной гирудином) было обследовано 105 условно здоровых детей, не болевших коронавирусной инфекцией нового типа. Для анали-

за результатов ее участников разделили на три возрастные подгруппы: подгруппа 1 — 21 пациент в возрасте 3 мес — 5 лет; подгруппа 2 — 39 пациентов в возрасте 6–10 лет; подгруппа 3 — 47 пациентов в возрасте 11–17 лет включительно. Всем детям проводили физикальный осмотр (сбор анамнеза, жалоб, клинический осмотр), лабораторные исследования (исследование воспалительных маркеров (СРБ) и общий клинический анализ крови для исключения острого воспалительного процесса, а также отклонений в гемограмме, потенциально влияющих на показатели агрегации тромбоцитов), импедансным методом в цельной крови определяли показатели агрегации тромбоцитов.

На втором (основном) этапе работы было проведено сплошное одномоментное проспективное исследование 250 пациентов детского возраста, проживающих на территории Российской Федерации.

В группу пациентов, перенесших COVID-19, включили 143 ребенка (основная группа исследования), которые перенесли COVID-19 в легкой форме (80 мальчиков и 63 девочки), в возрасте от 4 мес до 17 лет включительно. Медиана возраста в данной группе наблюдения составила 9,3 (6,2; 13,8) года.

Группу сравнения (контрольную) составили 107 пациентов, не болевших коронавирусной инфекцией нового типа (53 мальчика и 54 девочки), в возрасте от 4 мес до 17 лет 11 мес. Медиана возраста составила 8,9 (5,6; 12,8) года.

Детям группы COVID-19 и группы сравнения было проведено комплексное обследование, которое включало: физикальный осмотр (сбор анамнеза, жалоб, клинический осмотр), агрегатометрию и лабораторные исследования (исследование воспалительных маркеров (СРБ) для исключения острого воспалительного процесса, а также отклонений в гемограмме, потенциально влияющих на показатели агрегации тромбоцитов). Агрегацию тромбоцитов оценивали у всех детей в установленные временные интервалы после перенесенной коронавирусной инфекции нового типа (1–3 мес, 3–6 мес, 6–12 мес, 12 мес и более).

Критерии соответствия

Критериями соответствия для участия в исследовании являлись детский возраст и перенесенная коронавирусная инфекция нового типа, отсутствие симптомов острого воспалительного заболевания, а также врожденных нарушений плазменного и тромбоцитарного гемостаза.

Продолжительность исследования

Исследование проведено на базе консультативно-диагностического центра для детей НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦ № 2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» (Москва) с ноября 2021 по март 2023 г.

Исходы исследования

Основной исход исследования. Определение направленности нарушений агрегации тромбоцитов у пациентов, перенесших COVID-19, проживающих на территории Российской Федерации.

Методы регистрации исходов. Физикальный осмотр — сбор анамнеза, жалоб, клинический осмотр.

Исследование воспалительных маркеров (СРБ) для исключения острого воспалительного процесса проводили с использованием автоматического биохимического анализатора (AU 680, Beckman Coulter, США).

Общий клинический анализ крови для выявления отклонений в гемограмме, потенциально влияющих на показатели агрегации тромбоцитов, осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XS 100i (Sysmex Corporation, Япония).

Исследование агрегации тромбоцитов проводили в цельной крови с помощью полуавтоматического агрегометра Multiplate (Roche, Франция) с использованием различных индукторов агрегации. Обеспечено ежегодное техническое обслуживание автоматического агрегометра Multiplate (Verum Diagnostica, Roche, Франция).

Агрегационную кривую и ее основные параметры рассчитывали автоматически, результат представлял измерение величины площади под кривой (AUC). Измерения выполняли в образцах цельной крови, обработанной антикоагулянтами (гирудином); исследование проводили с использованием следующих индукторов агрегации: тромбин-активирующего пептида (TRAP), аденозиндифосфорной кислоты (АДФ), арахидоновой кислоты. Результаты указывались в единицах U.

Контроль качества импедансной агрегатометрии осуществляли с использованием сертифицированных контрольных материалов для проведения внутрилабораторного контроля качества согласно инструкции по эксплуатации анализатора в декретированные сроки.

Образцы крови доставляли в лабораторию в течение 15–20 мин после венепункции и анализировали через 30–35 мин с момента поступления биологического материала.

Импедансометрию проводили с помощью агрегометра Multiplate (Roche, Франция) в цельной крови.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено независимым этическим комитетом ФГБНУ ЦКБ РАН (в настоящее время — ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»), протокол № 148 от 15 января 2021 г. Законные представители ребенка или ребенок, достигший возраста 15 лет, подписывали информированное добровольное согласие на обследование. При формировании базы данных исследования все сведения участвовавших пациентов были деперсонализированы.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет объема выборки не производился.

Методы статистического анализа данных

В настоящем исследовании для статистического анализа был использован язык программирования R версии 4.1.3. Для проверки нормальности распределения количественных показателей при условии, что объем выборки составлял не менее 50 наблюдений, был применен критерий Колмогорова–Смирнова. Однако все рассматриваемые распределения значительно отличались от нормального. В связи с этим количественные показатели были описаны с использованием медианы и интерквартильного размаха (25–75-й перцентили). Для сравнения независимых групп, содержащих две выборки, был применен критерий Манна–Уитни. Для сравнения независимых групп, содержащих три и более выборок, использовался критерий Краскела–Уоллиса.

Сравнение категориальных признаков проверялось с помощью критерия χ^2 . При наличии наблюдений в одной из ячеек таблицы 2×2, меньших или равных 5, был применен точный критерий Фишера. Гипотезы проверялись двусторонне, и значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Для уточнения референсных интервалов показателей был использован статистический пакет Reference Intervals версии 1.3.0, который представляет собой набор инструментов, позволяющих рассчитать соответствующие эталонные диапазоны (референсные интервалы) с доверительными интервалами для медицинских диагностических целей. Пакет был сформирован в соответствии со стандартами для определения референсных интервалов в клинической лаборатории [18].

Результаты

Объекты (участники) исследования

Для выполнения первого этапа работы — уточнения нормативных значений агрегации тромбоцитов с различными индукторами в цельной крови (стабилизированной гирудином) — была сформирована группа из 105 детей. Данные физикального осмотра и лабораторного обследования свидетельствовали об отсутствии у них изменений в гемограмме и позволили исключить острые воспалительные процессы. Для анализа результатов ее участников разделили на три возрастные подгруппы: подгруппа 1 — 21 пациент в возрасте 3 мес — 5 лет; подгруппа 2 — 39 пациентов в возрасте 6–10 лет; подгруппа 3 — 47 пациентов в возрасте 11–17 лет включительно.

На втором (основном) этапе работы было отобрано 250 детей; с учетом предполагаемой уязвимости пациентов с кардиоваскулярной патологией и наследственным заболеваниями именно детям с отягощенным анамнезом

отдавали предпочтение. Были сформированы две группы детей — болевшие (143 ребенка) и не болевшие COVID-19 (107 детей). В группе перенесших COVID-19 в легкой форме преобладали дети без хронических отклонений в состоянии здоровья 90/143 (62,9%); дети с сердечно-сосудистой патологией составили 34/143 (23,8%) случаев; дети с заболеваниями нервной системы — 2/143 (1,4%); дети с наследственными моногенными синдромами — 7/143 (4,90%); дети с мукополисахаридозом (МПС) — 9/143 (6,3%), из них с МПС I типа — 2 детей, II типа — 2, III типа — 1 и IV типа — 4 ребенка; с синдромом микроделеции хромосомы — 1/143 (0,7%). Распределение по нозологическим формам представлено на рис. 1.

В репрезентативную группу сравнения были подобраны дети, не болевшие COVID-19: как условно здоровые — 67/107 (62,6%), так и с различной сердечно-сосудистой патологией — 24/107 (22,4%); патологией нервной системы — 1/107 (1%); с наследственными моногенными синдромами — 6/107 (5,6%); с МПС — 9/107 (8,4%), из них с МПС I типа — 1 ребенок, II типа — 3, III типа — 3 и IV типа — 2 детей (рис. 2).

Статистически значимых различий в структуре групп пациентов не установлено ($p < 0,05$).

Основные результаты исследования

На первом этапе работы в группе условно здоровых детей, сформированной для уточнения нормативных значений агрегации тромбоцитов с различными индукторами в цельной крови (стандартизация преаналитического этапа обеспечена международными и отечественными стандартами) [19], были определены параметры при стабилизации крови гирудином. Медианы и оптимальные интервалы для оценки агрегации тромбоцитов в крови, стабилизированной гирудином, представлены в табл. 1. Референсные значения для других индукторов были определены нами ранее [22].

228



Рис. 1. Характеристика группы пациентов, перенесших COVID-19

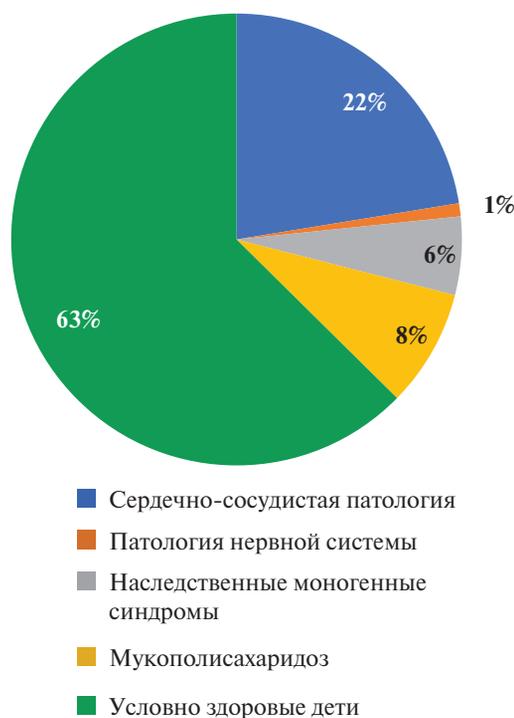


Рис. 2. Характеристика группы пациентов, не болевших COVID-19

Таблица 1. Медианы и межквартильные интервалы агрегации тромбоцитов в цельной крови, стабилизированной гирудином, с различными индукторами в группе условно здоровых детей

Показатель	Группа 1 (3 мес – 5 лет) Me (IQR), U	Группа 2 (6–10 лет) Me (IQR), U	Группа 3 (11–17 лет 11 мес) Me (IQR), U	p-value* между группами
TRAP	80 (68, 98)	95 (84, 104)	94 (80, 103)	0,129
АДФ	69 (44, 80)	74 (63, 84)	62 (50, 78)	0,080
ASP	89 (79, 106)	104 (92, 114)	96 (83, 112)	0,067

Примечание. p-value* – статистически значимые результаты, $p < 0,05$.

Далее на втором этапе в исследовании для определения направленности нарушений агрегации тромбоцитов у пациентов детского возраста, перенесших COVID-19, использовали уточненные для гирудина, а также установленные ранее параметры нормативных значений агрегационной функции тромбоцитов.

При анализе результатов агрегации тромбоцитов у детей в зависимости от временного интервала после перенесенного COVID-19 были выявлены статистически значимые изменения функции тромбоцитов (рис. 3).

С тромбином гиперагрегация развивалась преимущественно в интервале 1–3 мес и 6–12 мес после за-

болевания, с преобладанием в интервале 6–12 мес; гипоагрегация — в сроки 3–6 мес и более 12 мес после перенесенного заболевания, с преобладанием в наиболее отдаленном интервале ($p < 0,05$).

С АДФ гиперагрегация чаще встречалась в интервалах 1–3 мес и более года, с преобладанием в последнем; гипоагрегация преобладала через 12 мес и более после перенесенного заболевания, имела тенденция к неуклонному росту во всех временных точках.

Таким образом, даже по прошествии временного интервала более года после перенесенного заболевания у пациента может отмечаться как гипер-, так и гипоагрегация тромбоцитов с АДФ (рис. 4).

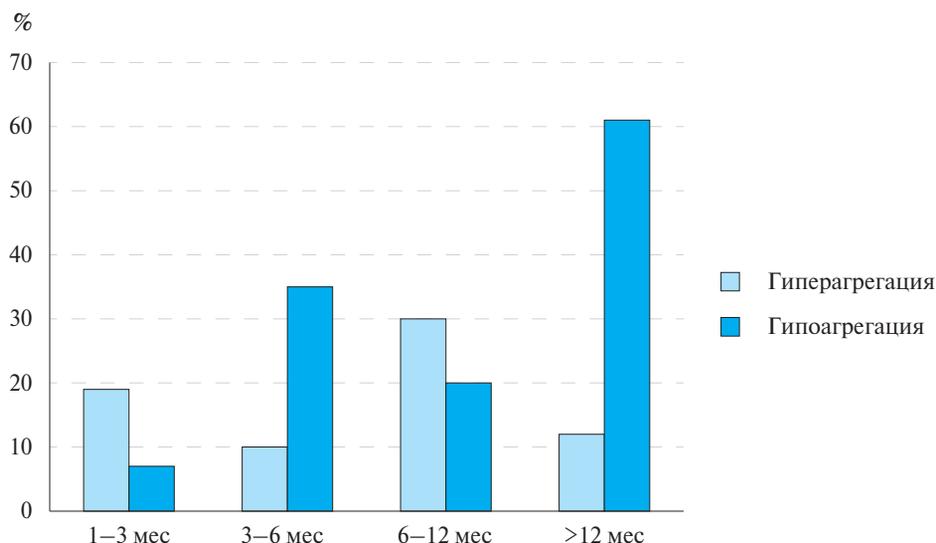


Рис. 3. Частота изменений агрегации тромбоцитов с тромбином в зависимости от временного интервала после перенесенного COVID-19

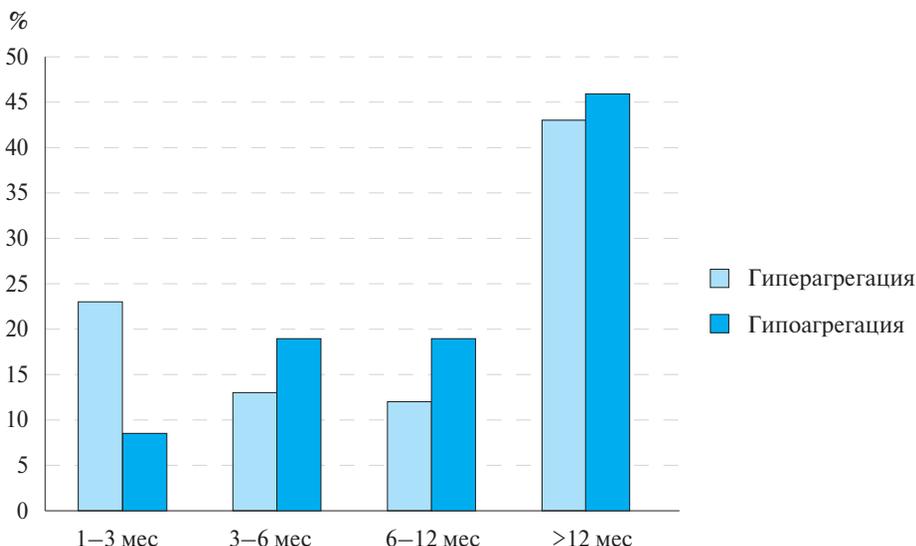


Рис. 4. Частота изменений агрегации тромбоцитов с АДФ в зависимости от временного интервала после перенесенного COVID-19

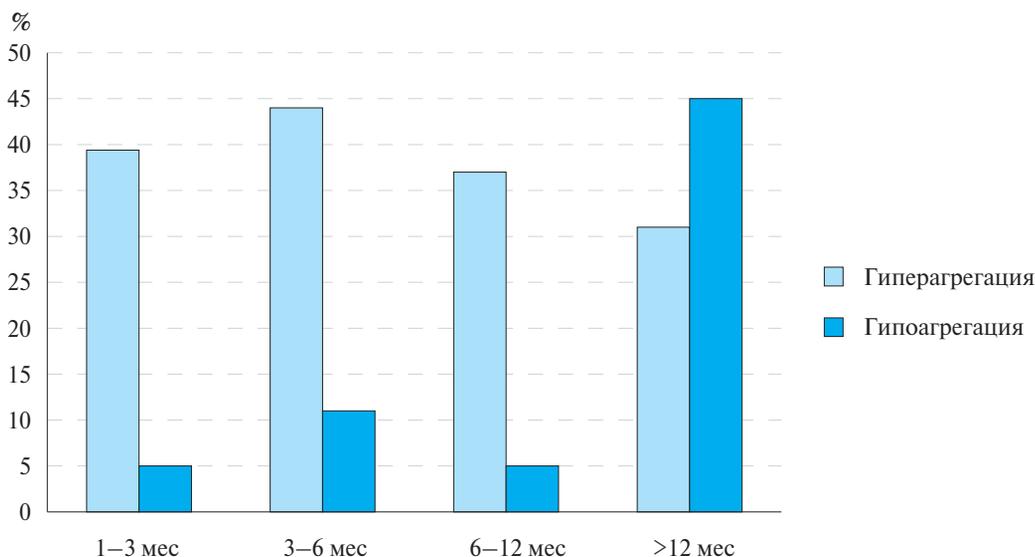


Рис. 5. Частота изменений агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой в зависимости от временного интервала после перенесенного COVID-19

Таблица 2. Медианы агрегации тромбоцитов с различными индукторами у пациентов, перенесших COVID-19

Индуктор	Медиана в основной группе (n = 143)	Медиана в группе сравнения (n = 107)	p-value* между группами
Арахидоновая кислота	96 (81,108) U	94 (84,105) U	p = 0,008
АДФ	63 (51,75) U	74(60,80) U	p = 0,002
TRAP	86 (74,96) U	91 (80,104) U	p = 0,006

Примечание. p-value* — статистически значимые результаты, p < 0,05.

С арахидоновой кислотой гиперагрегация отмечалась на протяжении всех временных интервалов с преобладанием в 3–6 мес, с тенденцией к снижению лишь через год после инфекции; гипоагрегация чаще встречалась в отдаленный период — более года после заболевания (p < 0,05) (рис. 5).

Таким образом, нарушения в агрегационной функции тромбоцитов по типу гиперагрегации наблюдались более чем у половины пациентов 79/143 (55,2%) после перенесенного COVID-19. При этом гиперагрегация тромбоцитов со всеми индукторами отмечалась у них на ранних сроках после COVID-19 (1–3 мес), с тенденцией к снижению с тромбином и АДФ в дальнейшем, а снижение

агрегации со всеми индукторами чаще отмечалось в срок более года после перенесенного заболевания. В то же время гиперагрегация с арахидоновой кислотой сохранялась в течение длительного времени (до 12 мес).

При сравнении результатов агрегации тромбоцитов между группой пациентов, перенесших COVID-19, и неболевшими детьми установлены статистически значимая разница между значениями агрегации с АДФ и арахидоновой кислотой (p < 0,05) и отличия по результатам с TRAP. Медианы значений агрегации с различными индукторами приведены в табл. 2.

Сравнительный анализ параметров агрегации тромбоцитов у детей исследуемых групп представлен на рис. 6–8.

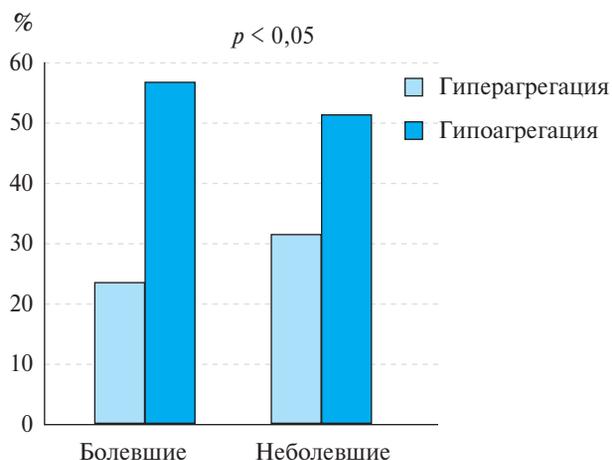


Рис. 6. Нарушения агрегации тромбоцитов с тромбином в группе болевших COVID-19 и неболевших

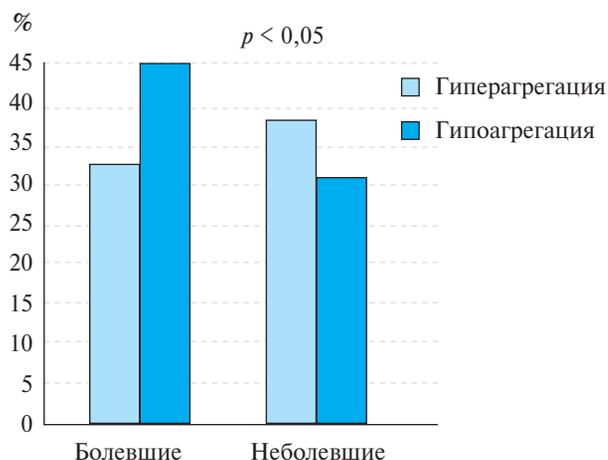


Рис. 7. Нарушения агрегации тромбоцитов с АДФ в группе болевших COVID-19 и неболевших

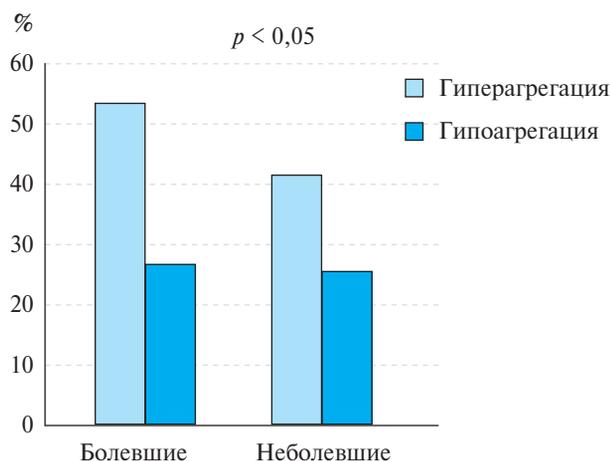


Рис. 8. Нарушения агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой в группе болевших COVID-19 и неболевших

При исследовании с тромбином установлено, что тромбоцитопатия по типу гиперагрегации развивалась у каждого пятого пациента 31/143 (21,7%), а гипоагрегация — более чем у половины пациентов 80/143 (55,7%), перенесших COVID-19, что статистически значимо отличалось от группы сравнения ($p < 0,05$).

При исследовании агрегации с АДФ дисфункция по типу гиперагрегации наблюдалась почти у трети пациентов 45/143 (31,5%), а гипоагрегация — почти у 2/3 пациентов 64/143 (44,8%) ($p < 0,05$).

При исследовании с арахидоновой кислотой дисагрегация тромбоцитов по типу гиперагрегации установлена почти у каждого второго пациента — 73/143 (51%), а гипоагрегация — у каждого четвертого пациента — 35/143 (24,5%), что статистически значимо отличалось от группы сравнения ($p < 0,05$).

Также в группе детей, перенесших COVID-19, у каждого третьего — 42/143 (29,3%) отмечались сочетанные нарушения в виде гипо- и гиперагрегации с различными индукторами, что значимо отличалось от группы детей, не болевших коронавирусной инфекцией нового типа ($p < 0,05$).

Кроме того, при исследовании агрегации тромбоцитов не было установлено статистически значимых отличий между мальчиками и девочками ($p > 0,05$), также не выявлено значимых отличий в зависимости от сопутствующего заболевания ($p > 0,05$) и возраста ($p > 0,05$).

Дополнительные результаты

При исследовании показателей СРБ в группах пациентов не выявлено изменений в зависимости от пола, временного периода после перенесенного COVID-19, а также возраста.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Анализ результатов исследования параметров агрегации тромбоцитов, полученных методом импедансной агрегатометрии (прибор Multiplate, Roche, Франция), показал, что наиболее часто нарушения в агрегационной функции тромбоцитов наблюдаются у пациентов, перенесших COVID-19, при этом каких-либо статистически значимых отличий между мальчиками и девочками не выявлено ($p > 0,05$).

При оценке результатов исследования функции тромбоцитов в зависимости от срока после перенесенного заболевания установлено, что активация тромбоцитов со всеми индукторами отмечается в интервале 1–3 мес после заболевания, с тенденцией к снижению в дальнейшем с тромбином и АДФ. Однако гиперагрегация с арахидоновой кислотой сохраняется на протяжении года и более после заболевания.

Почти у половины пациентов через год после COVID-19 развивается гипоагрегация со всеми индукторами. При этом сочетанные нарушения агрегации тромбоцитов с несколькими индукторами выявлены у трети пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме.

Обсуждение основного результата исследования

Полученные результаты свидетельствуют об активации тромбоцитов после перенесенного COVID-19, что проявляется гиперагрегацией со всеми индукторами в ранние сроки после перенесенного заболевания.

Очевидно, что при COVID-19 происходит изменение активации рецепторов тромбоцитов, что проявляется в нарушении агрегационной функции тромбоцитов с различными индукторами. Вызываемая тромбином агрегация, опосредуемая рецепторами PAR (protease-activated receptors), активирует тромбоциты и приводит к активации фосфолипазы beta и ингибированию аденилатциклазы. Происходящие изменения как внутри тромбоцитов, так и на поверхности (рецепторы) могут менять агрегационную функцию тромбоцитов в сторону как гипо-, так и гиперагрегации. Возникающая при этом гипоагрегация может играть защитную роль в отношении тромбоза вследствие потери тромбинового сигнального пути в тромбоцитах.

Изменения функциональной активности тромбоцитов (чаще в сторону повышения), вероятно, связаны в том числе с развитием эндотелиальной дисфункции на фоне вирусной инфекции и сохранением данных изменений в постинфекционном периоде. Установленные в исследовании нарушения функции тромбоцитов, возможно, в перспективе выступят предикторами развития нарушений сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, определяя прогноз развития тромботических осложнений в микроциркуляторном русле в ранние сроки после болезни.

Выявленный факт наличия гиперагрегации с арахидоновой кислотой и сохранения данного отклонения в течение продолжительного периода после заболевания (до 12 мес) может свидетельствовать о хроническом воспалительном процессе в стенках сосудов в течение длительного времени после перенесенной коронавирусной инфекции нового типа. Такие изменения при неблагоприятных условиях (таких как тяжелое течение заболевания, травмы, хирургические операции, в/в катетеризация и т.д.) могут инициировать каскад патологических реакций, запускающих нарушения не только в первичном, но и в плазменном звене гемостаза. Таким образом, данный параметр агрегации, вероятно, также может быть рассмотрен в качестве предиктора нарушений гемостаза и маркера эндотелиального воспаления. Кроме того, в условиях ограниченного выбора индукторов агрегации предпочтение следует отдать именно арахидоновой кислоте как более информативному показателю.

Еще не до конца понятно, почему агрегация тромбоцитов с арахидоновой кислотой повышается после перенесенного COVID-19. Можно предположить, что вирус вызывает воспаление, приводящее к увеличению выработки арахидоновой кислоты и ее метаболитов, которые,

в свою очередь, могут стимулировать агрегацию тромбоцитов. Кроме того, инфекция COVID-19 может вызывать дисфункцию эндотелия, которая, в свою очередь, также может способствовать активации и агрегации тромбоцитов. Таким образом, увеличение агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой может быть вызвано несколькими факторами, включая воспаление, окислительный стресс и изменения в липидном обмене. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью понять лежащие в основе развивающейся тромбоцитопатии механизмы.

Снижение функции тромбоцитов (со всеми индукторами) в интервале более года у пациентов, перенесших COVID-19, предположительно объясняется развитием синдрома «истощения» тромбоцитов и нарушением функционирования их рецепторного аппарата и/или нарушением высвобождения биоактивных веществ из гранул. Данные изменения могут стать причиной развития геморрагического синдрома в поздние сроки (более 12 мес) после перенесенного заболевания; такие изменения параметров агрегации тромбоцитов могут указывать на минимальное субэндотелиальное воспаление, у детей длительно сохраняющееся (до года после перенесенной коронавирусной инфекции нового типа), что необходимо учитывать при ведении пациентов после COVID-19.

Установленные нарушения в первичном звене гемостаза свидетельствуют о высокой частоте развития дисагрегационных тромбоцитопатий после перенесенного COVID-19. Очевидно, что после перенесенной коронавирусной инфекции нового типа у детей длительно сохраняется риск развития осложнений со стороны системы гемостаза, особенно у пациентов с тяжелыми формами хронических заболеваний, а также на фоне травм и операций, что обуславливает потребность организации в комплексе медицинских мероприятий «особого внимания» — диспансерного наблюдения таких больных. Изучение функции тромбоцитов у детей может помочь оценить прогноз развития нарушений в свертывающей системе, а также определить направленность вмешательств по осуществлению клинического и профилактического контроля коагуляционного равновесия. Выявленные особенности агрегационной функции тромбоцитов у детей с арахидоновой кислотой в качестве индуктора, возможно, могут быть применены и для возрастной популяции.

Заключение

Исследование параметров агрегации тромбоцитов позволяет оценить состояние тромбоцитарного звена гемостаза у детей, перенесших новую коронавирусную инфекцию. Метод импедансной агрегатометрии с учетом

феномена лейкоцитарно-тромбоцитарной адгезии дает возможность оценить нарушения функции тромбоцитов как на фоне инфекции, так и в течение длительного временного периода после нее.

В результате проведенного исследования уточнено состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у пациентов, перенесших COVID-19 в легкой форме. Определены векторы направлений и временные интервалы развития нарушений функций тромбоцитов после перенесенного заболевания. При исследовании маркеров воспаления (СРБ) в группах пациентов не выявлено изменений в зависимости от пола, возраста и временного периода после перенесенного COVID-19.

При исследовании агрегации тромбоцитов в зависимости от давности перенесенного заболевания статистически значимых отличий по полу, возрасту и временному интервалу не установлено ($p > 0,05$).

Накопление данных агрегатометрии позволит в дальнейшем оптимизировать стратегию наблюдения за детьми, перенесшими коронавирусную инфекцию нового типа, повышая важность принципов междисциплинарности, для предупреждения развития осложнений со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование и публикация статьи осуществлены за счет средств и в рамках выполнения государственного задания ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», учредитель — Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

Конфликт интересов. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. О.Б. Гордеева — непосредственное участие в проведении исследования, поисково-аналитическая работа при написании статьи, участие в написании текста рукописи, участие в редактировании и утверждении окончательного варианта статьи для публикации; Л.С. Намазова-Баранова — руководство и организация проведения исследования, участие в редактировании и утверждении окончательного варианта статьи для публикации; А.В. Доброток — участие в проведении исследования, проведение поисково-аналитической работы при написании статьи, проведение статистического анализа, участие в написании текста рукописи; Н.Л. Алешенко — участие в проведении исследования, выполнение лабораторных исследований. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Шатохин Ю.В., Снежко И.В., Рябикина Е.В. Нарушение гемостаза при коронавирусной инфекции // *Южно-Российский журнал терапевтической практики*. — 2021. — Т. 2. — № 2. — С. 6–15. [Shatohin YuV, Snezhko IV, Ryabikina EV. Violation of hemostasis in coronavirus infection. *South Russian Journal of Therapeutic Practice*. 2021;2(2):6–15. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21886/2712-8156-2021-2-2-6-15>
- Шоалимова З.М., Султонов С.О., Максудов Ж.И. Агрегация тромбоцитов как показатель эндотелиальной дисфункции при постинфарктном кардиосклерозе и ее коррекция // *Молодой ученый*. — 2017. — № 4 (138). — С. 266–269. [Shalimova ZM, Sultanov S.O., Maksudov J.I. Platelet aggregation as an indicator of endothelial dysfunction in postinfarction cardiosclerosis and its correction. *Young Scientist*. 2017;4(138):266–269. (In Russ.)] Available from: <https://moluch.ru/archive/138/38754/>
- Марочков А.В., Липницкий А.Л., Купреева И.А., и др. Показатели коагуляционного равновесия и агрегация тромбоцитов у пациентов с инфекцией COVID-19 // *Новости хирургии*. — 2021. — Т. 29. — № 4. — С. 462–469. [Marochkov AV, Lipnitski AL, Kupreyeva IA, et al. Coagulation Balance and Platelet Aggregation Indicators in Patients with Infection COVID-19. *Novosti Khirurgii*. 2021;29(4):462–469. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2021.4.462>

4. Caillon A, Trimaille A., Favre J, et al. Role of neutrophils, platelets, and extracellular vesicles and their interactions in COVID-19-associated thrombopathy. *J Thromb Haemost.* 2022;20(1):17–31. doi: <https://doi.org/10.1111/jth.15566>
5. Гашимова Н.Р., Бицадзе В.О., Панкратьева Л.Л., и др. Дисрегуляция функции тромбоцитов у больных COVID-19 // *Акушерство, гинекология и репродукция.* — 2022. — Т. 16. — № 6. — С. 692–705. [Gashimova NR, Bitsadze VO, Pankratyeva LL, et al. Dysregulated platelet function in COVID-19 patients. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2022;16(6):692–705. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.372>
6. Caillon A, Trimaille A, Favre J, et al. Role of neutrophils, platelets, and extracellular vesicles and their interactions in COVID-19-associated thrombopathy. *J Thromb Haemost.* 2022;20(1):17–31. doi: <https://doi.org/10.1111/jth.15566>
7. Петров В.И., Герасименко А.С., Кулакова И.С., и др. Механизмы развития COVID-19 ассоциированной коагулопатии. Диагностика. Лечение // *Лекарственный вестник.* — 2021. — Т. 15. — № 2 (82). — С. 21–27. [Petrov VI, Gerasimenko AS, Kulakova IS, et al. Mekhanizmy razvitiya COVID-19 associirovannoy koagulopatii. Diagnostika. Lechenie. *Lekarstvennyj Vestnik.* 2021;15(2(82)):21–27. (In Russ.)]
8. Бицадзе В.О., Слуханчук Е.В., Хизроева Д.Х., и др. Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) в патогенезе тромбоза и тромбовоспалительных заболеваний // *Вестник РАМН.* — 2021. — Т. 76. — № 1. — С. 75–85. [Bitsadze VO, Slukhanchuk EV, Khizroeva JK, et al. Extracellular Neutrophil Traps (NETs) in the Pathogenesis of Thrombosis and Thromboinflammation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2021;76(1):75–85. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1395>
9. Hottz ED, Bozza PT. Platelet-leukocyte interactions in COVID-19: Contributions to hypercoagulability, inflammation, and disease severity. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6(3):e12709. doi: <https://doi.org/10.1002/rth2.12709>
10. Swenson SS. Platelet dysfunction in COVID-19: mechanisms and implications for patient management. *Thrombosis and Haemostasis.* 2021.
11. Bonaventura A, Vecchié A, Dagna L, et al. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2021;21(5):319–329. doi: <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00536-9>
12. Ларина В.Н., Головки М.Г., Ларин В.Г. Влияние коронавирусной инфекции (COVID-19) на сердечно-сосудистую систему // *Вестник РГМУ.* — 2020. — № 2. — С. 5–13. [Larina VN, Golovko MG, Larin VG. Vliyanie koronavirusnoy infekcii (COVID-19) na serdечно-sosudistuyu sistemu. *Vestnik RGMU.* 2020;2:5–13. (In Russ.)]
13. Барбараш О.Л., Каретникова В.Н., Кашталап В.В., и др. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и сердечно-сосудистые заболевания // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* — 2020. — Т. 9. — № 2. — С. 17–28. [Barbarash OL, Karetnikova VN, Kashtalap VV, et al. New coronavirus disease (COVID-19) and cardiovascular disease. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2020;9(2):17–28. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2020-9-2-17-28>
14. Тихомирова И.А., Рябов М.М. Сравнительный анализ показателей состояния системы гемостаза при тяжелом течении COVID-19 // *Региональное кровообращение и микроциркуляция.* — 2021. — Т. 20. — № 4. — С. 87–94. [Tikhomirova IA, Ryabov MM. Comparative analysis of hemostasis system state indicators in severe COVID-19. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2021;20(4):87–94. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2021-20-4-87-94>
15. Castro RA, Frishman WH. Thrombotic Complications of COVID-19 Infection: A Review. *Cardiol Rev.* 2021;29(1):43–47. doi: <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000347>
16. Ярец Ю.И., Ромашевская И.П., Ходулева С.А., и др. Агрегатометрия в диагностике тромбоцитопатий у детей // *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа.* — 2021. — Т. 7. — № 4. — С. 507–511. [Yarets Y, Romashevskaya I, Choduleva S. Aggregatometry in the diagnosis of thrombocytopenias in children. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe.* 2021;7(4):507–511. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.7.4.013>
17. Soliman M, Hartmann M. Multiplate Platelet Aggregation Findings Are Dependent on Platelet Count but Can Be Corrected by Use of a Ratio. *Appl Sci.* 2020;10:7971. doi: <https://doi.org/10.3390/app10227971>
18. Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. British Committee for Standards in Haematology. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol.* 2010;149(2):209–220. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.08022.x>
19. Halimeh S, de Angelis G, Sander A, et al. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr.* 2010;222(3):158–163. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1249081>
20. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа» (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2008 г. № 554-ст). [Nacional'nyj standart RF GOST R 53079.4-2008 "Tekhnologii laboratornye klinicheskie. Obespechenie kachestva klinicheskikh laboratornykh issledovanij. Chast' 4. Pravila vedeniya preanaliticheskogo etapa" (utv. prikazom Federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii ot 18 dekabrya 2008 g. № 554-st) (In Russ.)]
21. NCCLS. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS; 2000. 38 p.
22. Гордеева О.Б., Карасева М.С., Бабайкина М.А., и др. Исследование агрегационной функции тромбоцитов у детей для определения нормативных значений в различных возрастных группах // *Лечащий врач.* — 2022. — Т. 4. — № 25. — С. 27–32. [Gordeeva OB, Karaseva MS, Babaikina MA, et al. Platelet aggregation function test for children in order to determine the normative values in different age groups. *Lechaschi Vrach.* 2022;4(25):27–32. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.51793/OS.2022.25.4.005>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Гордеева Ольга Борисовна, к.м.н., доцент [*Olga B. Gordeeva*, MD, PhD, Assistant Professor]; адрес: 119333, Москва, ул. Фотиевой, д. 10, стр. 1 [address: 10 bldg 1 Fotieva str., 119333, Moscow, Russia]; e-mail: obr@yandex.ru, SPIN-код: 2562-7725, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8311-9506>

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна, д.м.н., профессор, академик РАН [*Leila S. Namazova-Baranova*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: orgkomitet@pediatr-russia.ru, SPIN-код: 1312-2147, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2209-7531>

Доброток Альбина Витальевна [*Albina V. Dobrotok*]; e-mail: dobrotokav@gmail.com, SPIN-код: 4248-8015, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8116-598X>

Алешенко Наталья Леопидовна [*Natalia L. Aleshenko*]; e-mail: nl.aleshenko@gmail.com, SPIN-код: 7387-8709, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-9959>