

А.Д. Макацария¹, Д.Х. Хизроева¹, И. Шенфельд²,
 М.В. Третьякова¹, Е.В. Слуханчук^{1,3}, А.С. Шкода⁴,
 Л.Л. Панкратьева⁵, М.И. Петровский⁶, И.В. Машечкин⁶,
 Д.В. Блинов^{7,8}, Ж.-К. Гри^{1,9,10}, В.О. Бицадзе¹



¹Первый Московский государственный университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

²Университет Ариэль, Ариэль, Израиль

³Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Российская Федерация

⁴Городская клиническая больница № 67 имени Л.А. Ворохобова, Москва, Российская Федерация

⁵Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Российская Федерация

⁶Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

⁷Институт превентивной и социальной медицины, Москва, Российская Федерация

⁸Клинический госпиталь «Лапино» группы компаний «Мать и Дитя», Московская область, Российская Федерация

⁹Университетская клиника Нима, Ним, Франция

¹⁰Университет Монпелье, Монпелье, Франция

Фактор фон Виллебранда и миелопероксидаза как лабораторные предикторы выживаемости при тяжелом течении COVID-19

189

Обоснование. Тяжелый острый респираторный синдром, запускаемый вирусом SARS-CoV-2, обозначил центральную роль в патогенезе иммунотромбоза. При тяжелом течении COVID-19 описано массивное повреждение эндотелия с высвобождением большого количества мультимеров фактора фон Виллебранда (vWF) и последующим потреблением ADAMTS-13. Активация клеток врожденного иммунитета, в том числе нейтрофилов, приводит к образованию нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) и высвобождению миелопероксидазы (МПО), что, в свою очередь, способствует распространению процессов воспаления и тромбоза в микрососудистом русле. **Цель** — оценить прогностическую ценность концентрации vWF, ADAMTS-13 и МПО в отношении внутрибольничной смертности у пациентов с тяжелой формой COVID-19, нуждающихся в искусственной вентиляции легких (ИВЛ). **Методы.** Проведено одноцентровое наблюдательное исследование с участием 79 пациентов с тяжелым течением COVID-19, находившихся в отделении интенсивной терапии на ИВЛ. У всех пациентов определялись концентрации vWF, ADAMTS-13 и МПО в сыворотке крови, а также другие показатели — потенциальные предикторы внутрибольничной смертности. **Результаты.** Путем проведения многофакторного анализа было показано, что увеличение концентрации таких маркеров, как антиген vWF (vWF:Ag) и МПО человека (МПО:Ag), достоверно и независимо связано с высокой вероятностью смертности; vWF:Ag (ЕД/дл): скорректированное ОШ 3,360; 95%-й ДИ 1,562–7,228; $p = 0,0019$; МПО:Ag (нг/мл): скорректированное ОШ 1,062; 95%-й ДИ 1,024–1,101; $p = 0,0011$. На основании этих результатов был получен упрощенный показатель смертности, и пациенты были классифицированы как имеющие значения данного показателя выше или ниже медианного: высокое значение показателя было связано с более низкой кумулятивной выживаемостью ($p < 0,0001$), в 50% случаев смерть наступала на 13-е сут госпитализации. **Выводы.** При тяжелом течении COVID-19, требующем ИВЛ, повышенные концентрации МПО и vWF на момент поступления коррелируют с плохой выживаемостью.

Ключевые слова: COVID-19, ADAMTS-13, фактор фон Виллебранда, миелопероксидаза, выживаемость

Для цитирования: Макацария А.Д., Хизроева Д.Х., Шенфельд И., Третьякова М.В., Слуханчук Е.В., Шкода А.С., Панкратьева Л.Л., Петровский М.И., Машечкин И.В., Блинов Д.В., Гри Ж.-К., Бицадзе В.О. Фактор фон Виллебранда и миелопероксидаза как лабораторные предикторы выживаемости при тяжелом течении COVID-19. Вестник РАМН. 2022;77(3):189–198. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2094>

Обоснование

Эндотелиальная дисфункция, вызванная воспалением и иммунотромбозом, в настоящее время рассматривается в качестве ключевого механизма патогенеза COVID-19 [1–3]. Механизмы приобретенных нарушений гемостаза, наблюдаемых при тяжелом течении COVID-19, разнообразны. Зачастую происходит одновременная активация сразу нескольких путей гемостаза, в том числе активация тромбоцитов, путей коагуляционного гемостаза, подавление фибринолиза и др.,

с локальным образованием фибрина в легочных альвеолах. Это способствует активации локального внутрисосудистого свертывания при контакте с воспаленными альвеолами, приводящей к развитию тромботической микроангиопатии (ТМА) и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) в наиболее тяжелых случаях [4, 5].

Роль некоторых циркулирующих маркеров эндотелиальной активации и воспаления в рекрутировании и стимуляции клеток врожденного иммунитета, таких как миелоидные клетки, а именно фактор фон Вилле-

бренда и ADAMTS-13 (дизентегрин-подобная металлопротеаза с мотивом тромбоспондина-1, член 13), для эндотелия и миелопероксидазы (МПО) для циркулирующих клеток миелоидного ряда освещалась ранее [6].

В настоящее время в литературе имеется несколько публикаций о роли vWF, ADAMTS-13 и МПО при COVID-19 с ограниченным числом исследуемых пациентов и разноречивыми результатами [7–9].

Функция ADAMTS-13 заключается в расщеплении гигантских мультимеров vWF, обладающих высокой способностью связываться с тромбоцитами и стимулировать внутрисосудистую агрегацию и образование тромбов в микроциркуляторном русле. Патогенез развития дефицита ADAMTS-13 в условиях системного воспалительного ответа включает активацию секреции мультимеров vWF из эндотелия под действием провоспалительных цитокинов, подавление транскрипции ADAMTS-13 и прямую блокаду активности этого фермента. Было показано, что дефицит ADAMTS-13 коррелирует с исходами у пациентов с сепсисом и полиорганной недостаточностью [9, 10].

Нейтрофилы играют крайне важную роль во врожденном иммунном ответе во время воспалительной реакции. Они первыми направляются в очаг воспаления в ответ на высвобождение сигнальных молекул поврежденными тканями [11]. Одним из известных маркеров активации нейтрофилов является МПО. В устойчивом состоянии МПО хранится в азурофильных гранулах полиморфно-ядерных нейтрофилов и макрофагов, а в условиях воспалительного процесса высвобождается во внеклеточное пространство. Вместе с нейтрофильной эластазой МПО является важнейшим триггером образования внеклеточных ловушек нейтрофилов (NETs) при расщеплении внутриклеточных белков [12]. В то же время эти ферменты вызывают распад ядра с выбросом содержимого ядра — хроматиновых филаментов, высланных высокоактивными протеазами и белками ядерного, цитозольного происхождения и содержимого гранул. Наряду с другими ферментами, МПО способствует активации и выработке активных форм кислорода (ROS) с тяжелыми последствиями [13, 14].

Все эти данные демонстрируют необходимость анализа прогностического значения концентрации таких

A.D. Makatsariya¹, J.Kh. Khizroeva¹, Y. Shoenfeld², M.V. Tretyakova¹,
E.V. Slukhanchuk^{1,3}, A.S. Shkoda⁴, L.L. Pankratyeva⁵, M. Petrovskiy⁶, I.V. Mashechkin⁶,
D.V. Blinov^{7,8}, J.-C. Gris^{1,9,10}, V.O. Bitsadze¹

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

²Ariel University, Ariel, Israel

³Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

⁴L.A. Vorokhobov City Clinical Hospital No. 67, Moscow, Russian Federation

⁵Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

⁶Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

⁷Institute for Social and Preventive Medicine, Moscow, Russian Federation

⁸Lapino Clinical Hospital, MD Medical Group, Moscow region, Russian Federation

⁹University Hospital of Nîmes, Nîmes, France

¹⁰University of Montpellier, Montpellier, France

Von Willebrand Factor and Myeloperoxidase as Laboratory Predictive Markers of In-Hospital Survival in Severe COVID-19 Patients

Background. The severe acute respiratory syndrome of the SARS-CoV-2 virus-mediated coronavirus disease 2019 (COVID-19) highlighted the central role of immunothrombosis. Severe endothelial damage with the release of unusually large multimers of von Willebrand factor (vWF) and subsequent consumption of ADAMTS-13 is described during severe COVID-19. The activation of innate immune cells among which neutrophils contribute to the formation of extracellular neutrophil traps (NETs) and to the release of myeloperoxidase (MPO) potentially contributing to the spread of inflammation and microvascular thrombosis. **Objective** — to evaluate the ability of vWF, ADAMTS-13 and MPO to predict in-hospital mortality in severe COVID-19 patients needing mechanical ventilation. **Methods.** We performed a one-center observational study of 79 severe COVID-19 patients entering intensive care unit for mechanical ventilation, examining vWF, ADAMTS-13 and MPO among other potential predictors for in-hospital death. **Results.** After multivariate analysis, vWF antigen (vWF:Ag) and MPO antigen (MPO:Ag) were finally the single two parameters which increasing values were independently associated with non-survival; vWF:Ag (U/dL): adjusted OR 3.360, 95% CI 1.562–7.228, $p = 0.0019$; MPO:Ag (ng/ml): adjusted OR 1.062, 95% CI 1.024–1.101, $p = 0.0011$. From these results a simplified mortality score was derived and patients categorized as having a score value higher or lower than the median value of the score: a high score value was associated with a lower cumulative survival rate ($p < 0.0001$), 50% of the cases being dead at day 13 post-hospital admission. **Conclusions.** In severe COVID-19 necessitating mechanical ventilation, increasing values of MPO activity and of vWF antigen tested at admission are associated with poor survival.

Keywords: COVID-19, ADAMTS-13, von Willebrand Factor, myeloperoxidase, survival

For citation: Makatsariya AD, Khizroeva JK, Shoenfeld Y, Tretyakova MV, Slukhanchuk EV, Shkoda AS, Pankratyeva LL, Petrovskiy M, Mashechkin IV, Blinov DV, Gris J-C, Bitsadze VO. Von Willebrand Factor and Myeloperoxidase as Laboratory Predictive Markers of In-Hospital Survival in Severe COVID-19 Patients. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2022;77(3):189–198. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2094>

показателей, как vWF, ADAMTS-13 и МПО, в сыворотке крови у тяжелых пациентов с COVID-19.

Методы

Исследуемая популяция

Проведено наблюдательное исследование тяжелых пациентов с COVID-19, которые нуждались в искусственной вентиляции легких (ИВЛ) при поступлении в отделение интенсивной терапии (ОИТ). Все пациенты были госпитализированы в одну из крупнейших больниц, специализирующихся на COVID-19 (Московскую городскую больницу № 67), с мая 2020 по май 2021 г.

У всех пациентов был подтвержден положительный результат теста полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на SARS-CoV-2.

Первоначально оценено 214 госпитализированных пациентов с COVID-19 в ОИТ (рис. 1). Из них только 129 могли быть предварительно включены в исследование, так как имели образцы крови, взятые сразу при поступлении в центральной лаборатории, 79 пациентов из этого числа вошли в исследование в связи с наличием избытка плазмы для проведения «нерутинных» исследований.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией, которая представляет собой набор этических принципов медицинских исследований с участием людей, включая исследования на идентифицируемом человеческом материале. Исследование одобрено локальным комитетом по этике (ЛЭК).

Материалы и методы

Образцы плазмы были получены из вены до лечения антикоагулянтами при поступлении пациента в отделение интенсивной терапии и хранились при температуре -80°C после центрифугирования.

В замороженных образцах плазмы с низким содержанием тромбоцитов определяли концентрацию антигена фактора фон Виллебранда (VWF:Ag), активность

ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ак), концентрацию антигена ADAMTS-13 (ADAMTS-13:Ag) и концентрацию ингибитора ADAMTS-13 (ADAMTS-13:инг) с использованием тестов TECHNOZYM[®] компании Technoclone Herstellung von Diagnostika und Arzneimitteln Gmb, Вена, Австрия. Согласно данным производителя, нормальным референтным диапазоном для vWF:Ag считается диапазон 0,5–1,5 МЕ/мл (50–150%); активности ADAMTS-13 — 0,4–1,3 МЕ/мл; антигена ADAMTS-13 — 0,41–1,41 ЕД/мл; а ингибитор ADAMTS-13 определяется при его наличии выше 15 ЕД/мл.

Набор ИФА для определения антигена миелопероксидазы человека (МПО:Ag) для количественного определения его концентрации в плазме крови *in vitro* разработан компанией Hucult Biotech, Нидерланды. Нормальный референтный уровень МПО:Ag составляет $2,56 \pm 0,33$ нг/мл.

D-димер определяли с помощью коммерческой тест-системы (TECHNOLEIA[®], реагент Technoclone). Концентрации D-димера > 250 нг/мл считаются, в соответствии с данными производителя, патологическими.

Среди других лабораторных параметров, анализируемых в образцах, вошедших в исследование пациентов, были соотношение тромбоцитов и лимфоцитов в цельной крови, а также концентрации гемоглобина, общее количество лейкоцитов и абсолютное количество циркулирующих лейкоцитов каждого вида; ферменты печени (АСТ, АЛТ, ГГТ) и общие концентрации ЛДГ; уровень креатинина в сыворотке; концентрации С-реактивного белка (СРБ) и ферритина; протромбиновое время (ПВ) и АЧТВ.

Статистический анализ

Исследование базировалось исключительно на возможности отбора пациентов в ОИТ (неаприорный размер выборки).

Количественные переменные были описаны средними значениями и диапазоном значений, качественные переменные — числами и процентами. В качестве инструмента для оценки корреляции между параметрами использовалась ранговая корреляция Спирмена.

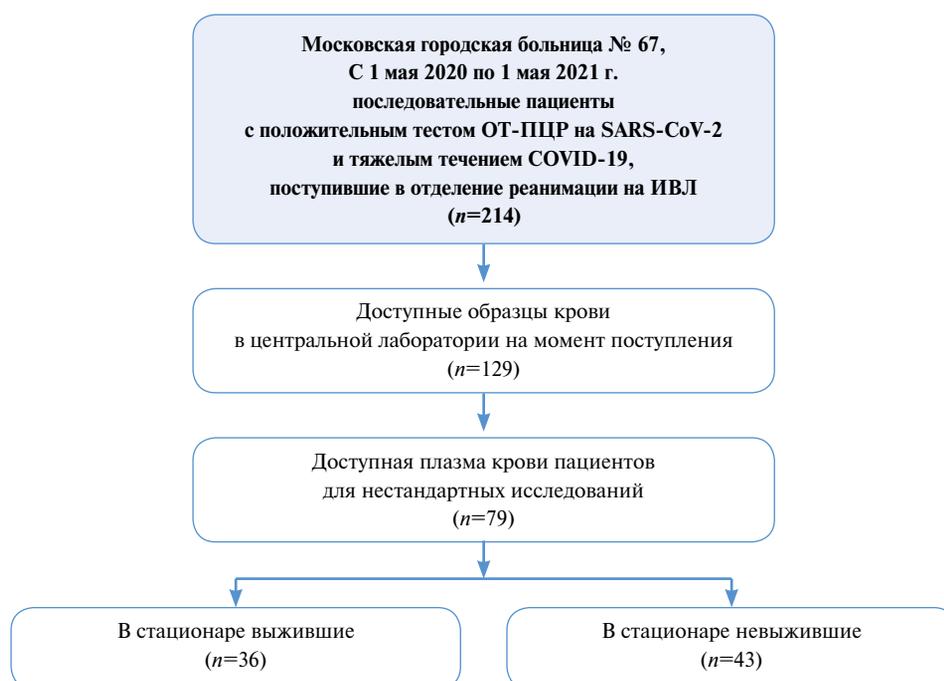


Рис. 1. Блок-схема участников исследования

Переменные сравнивались (с использованием критерия Краскела–Уоллиса дисперсионного анализа ANOVA по рангам для количественных переменных и критерия хи-квадрат для качественных переменных) между выжившими и умершими пациентами во время госпитализации. Результат сравнения считался значимым при $p < 0,05$.

Способность каждой переменной прогнозировать смерть к концу госпитализации была проверена с помощью конкордантных методов статистики (c-statistics) с построением ROC-кривой (receiver operating characteristic) и соответствующей площадью под кривой (AUC). ROC-кривую и AUC оценивали непараметрическим методом.

Унивариантный (UV) и многомерный (MV) логистический регрессионный анализ использовался для оценки прогностической значимости каждого исследуемого фактора. Биологические параметры, потенциально связанные со смертью (уровень значимости $p < 0,20$), были включены в многопараметрическую логистическую модель.

При сильной корреляции двух переменных (коэффициент корреляции Пирсона $> 0,80$) сохранялась только одна переменная по критериям осуществимости. Для выбора информативных параметров использовалась обратная регрессия. Окончательная многомерная модель включала только основные параметры, для которых $p < 0,10$.

192

На финальном этапе создания упрощенной шкалы смертности были использованы наиболее значимые коэффициенты, полученные в ходе анализа обратной регрессии.

Достоверность данного упрощенного показателя смертности была впоследствии проверена с помощью c-statistics.

Наилучшее прогностическое значение было определено как значение, оптимизирующее шкалу Youden, с оценкой чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительных результатов (positive predictive value, PPV), отношения правдоподобия положительного результата теста (positive likelihood ratio, LR+), прогностической ценности отрицательных результатов (negative predictive value, NPV), отношения правдоподобия отрицательного результата теста (negative likelihood ratio, LR-) для способности прогнозировать смертельный исход.

Упрощенный показатель смертности был далее использован для анализа выживаемости. Совокупная вероятность смерти была рассчитана с использованием метода Каплана–Мейера. Все сроки выживания были рассчитаны с момента поступления в больницу до момента смерти в больнице или цензурированного времени. Логарифмический ранговый тест использовался для сравнения кривых выживаемости между пациентами с упрощенным значением показателя смертности выше или ниже его наблюдаемого медианного значения у пациентов.

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения StatView® для Windows v. 5.0 (SAS Institute Inc., Кэри, Северная Каролина, США) и XLSTAT® v. 2015.4.01.20116 (Addinsoft SARL, Париж, Франция).

Результаты

Характеристики включенных пациентов

Регистрируемые при поступлении в стационар данные, включая возраст, пол и сопутствующие заболевания, представлены в табл. 1 в соответствии с окончательным исходом. Время пребывания пациентов в стационаре

Таблица 1. Характеристики 79 пациентов с тяжелой формой COVID-19, поступивших в отделение интенсивной терапии, в соответствии с их окончательным статусом выжившего/невыжившего в стационаре. Данные представлены в виде чисел (%)

Показатель	Невыжившие, n=43	Выжившие, n=36
Возраст (медиана), годы:		
• 18–30	0	2 (5,6)
• 31–50	7 (16,3)	8 (22,2)
• 51–70	19 (44,2)	17 (47,2)
• >70	17 (39,5)	9 (25)
Женщины	28 (65,1)	16 (44,4)
Мужчины	15 (34,9)	20 (55,6)
Сахарный диабет	16 (37,2)	9 (25)
Артериальная гипертензия	24 (55,8)	15 (41,2)
Легочная гипертензия	16 (37,2)	6 (16,7)
Ишемическая болезнь сердца	27 (62,8)	18 (50)
Онкологические заболевания	6 (14)	2 (5,6)
Ожирение	9 (20,9)	5 (13,9)
Венозные тромбозы	3 (7)	3 (8,3)
Артериальные тромбозы	5 (11,6)	4 (11,1)
Пациенты психиатрической больницы	8 (18,6)	5 (13,9)
Аутоиммунные заболевания	3 (7)	3 (22,2)
Заболевания печени	4 (9,3)	2 (5,6)
Хронические заболевания почек	4 (9,3)	1 (2,8)

составило от 5 до 80 дней (исключая одного пациента, пребывание которого в стационаре составило 108 дней).

Сравнение переменных между выжившими и умершими

Сначала были проанализированы и сравнены соответствующие переменные и параметры между выжившими и невыжившими (табл. 2). У невыживших были более высокие значения концентрации ЛДГ, креатинина, протромбинового времени, АЧТВ, D-димера, vWF:Ag, ADAMTS-13:Ag, МПО:Ag и более низкие значения соотношений ADAMTS-13:Ак по сравнению с vWF:Ag и ADAMTS-13:Ag по сравнению с vWF:Ag.

После этого мы проверили корреляции между лабораторными показателями, характеризующими воспаление (рис. 2). Данная упрощенная матрица корреляций демонстрирует сильную корреляцию между соотношением ADAMTS-13:Ак/vWF:Ag и ADAMTS-13:Ак, соотношением ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag и ADAMTS-13:Ag; сильную корреляцию между соотношением ADAMTS-13:Ак/vWF:Ag и соотношением ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag. К удивлению, не выявлено четкой корреляции между МПО:Ag и vWF:Ag, ADAMTS-13:Ак и ADAMTS-13:Ag. Соотношение ADAMTS-13:Ак/vWF:Ag слабо коррелировало с МПО:Ag и другими параметрами воспаления (кроме D-димера).

Прогноз летальности к концу госпитализации

Далее проведена оценка лабораторных маркеров активации системы гемостаза и воспаления как возможных предикторов внутрибольничной смерти. При однофакторном логистическом регрессионном анализе (табл. 3) было выявлено, что повышение концентрации ЛДГ, кре-

Таблица 2. Лабораторные переменные и параметры между выжившими и невыжившими

Показатель	Выжившие, n=36	Невыжившие, n=43	p
Лейкоциты, г/л	8,1 (6–10,3)	8,55 (7,025–11,035)	0,60
Базофилы, г/л	0,1 (0,015–0,2)	0 (0–0,1)	0,173
Гемоглобин, г/л	115 (95,3–141,8)	107 (91–128,5)	0,36
Тромбоциты:лимфоциты	191,3 (205,7–237,7)	228,7 (156,4–380,4)	0,96
АСТ, МЕ/л	30,3 (20,6–49,5)	52,6 (31,5–78,4)	0,0709
АЛТ, МЕ/л	28,8 (18,5–43,3)	33,5 (18,5–48,6)	0,78
ГГТ, МЕ/л	83,5 (38,2–109,7)	60,3 (39–167,8)	0,85
ЛДГ, МЕ/л	300,4 (236,2–314,2)	419 (321,8–583)	0,0006
Креатинин, мкмоль/л	73,4 (54,75–100,1)	159,8 (100–262,5)	0,0091
СРБ, мг/л	97,2 (31,0–163,8)	102 (46,7–176,9)	0,59
Ферритин, нг/мл	650 (331–876)	688,5 (328,2–1281, 2)	0,99
ПВ, с	15,9 (13,4–17,5)	19,9 (16,7–23,8)	0,0003
АЧТВ, с	28,5 (15,3–35,2)	40,9 (31,1–53,5)	< 0,0001
D-димер, нг/мл	658,5 (184–1268,5)	1676,7 (750,2–3108,5)	0,0002
vWF:Ag, МЕ/мл	1,94 (1,41–2,46)	2,73 (2,39–3,11)	0,0002
ADAMTS-13:Ак, МЕ/мл	0,54 (0,398–0,628)	0,42 (0,295–0,56)	0,0687
ADAMTS-13:Ag, Ед/мл	0,51 (0,297–0,660)	0,32 (0,23–0,50)	0,0297
ADAMTS-13:Инг, Ед/мл	7,27 (5,55–9,98)	6,39 (4,6–10,1)	0,58
МПО:Ag, нг/мл	15 (12–27,5)	38,2 (25,1–62,2)	< 0,0001
ADAMTS-13:Ак/vWF:Ак	0,277 (0,254–0,280)	0,141 (0,103–0,214)	0,0002
ADAMTS-13:Ag/vWF:Ак	0,242 (0,210–0,268)	0,118 (0,07–0,197)	0,0005

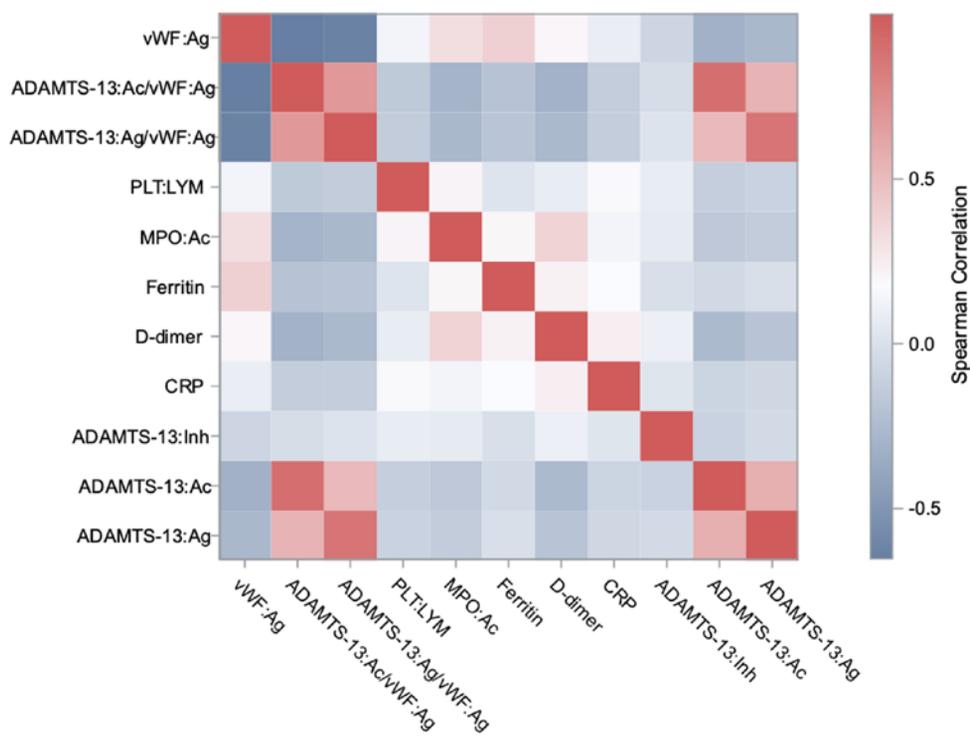


Рис. 2. Корреляция Спирмена между переменными (тепловая карта)

Таблица 3. Однофакторный анализ предполагаемых предикторов выживания среди лабораторных параметров

Показатель	OR (95% CI)	p	AUC
Лейкоциты, г/л	0,4042–0,6663	0,60	0,535
Базофилы, г/л	0,4446–0,8070	0,201	0,626
Гемоглобин, г/л	0,4338–0,6884	0,35	0,561
ЛДГ, МЕ/л	0,7116–0,9375	0,0010	0,825
Креатинин, мкмоль/л	0,5793–0,9260	0,0103	0,753
СРБ, мг/л	0,4032–0,6707	0,59	0,537
Ферритин, нг/мл	0,2901–0,7099	0,99	0,500
ПВ, с	0,6235–0,8545	0,0004	0,739
АЧТВ, с	0,6525–0,8683	0,0001	0,760
D-димер, нг/мл	0,6333–0,8543	0,0002	0,744
vWF:Ag, МЕ/мл	0,6212–0,8560	0,0003	0,739
ADAMTS-13:Ag, Е/мл	0,5185–0,7678	0,0301	0,643
ADAMTS-13:Ак, МЕ/мл	0,4947–0,7458	0,0685	0,620
МПО:Ag, нг/мл	0,7151–0,9038	< 0,0001	0,810
ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag	0,6119–0,8391	0,0006	0,726
ADAMTS-13:Ак/vWF:Ag	0,6305–0,8558	0,0002	0,743
АСТ, МЕ/л	0,4695–0,8878	0,0696	0,679
ГГТ, МЕ/л	0,3344–0,7140	0,84	0,524
АЛТ, МЕ/л	0,3442–0,7128	0,77	0,529
Тромбоциты:лимфоциты	0,3188–0,6923	0,96	0,506

194

Таблица 4. Результаты мультивариантного анализа предикторов выживания среди лабораторных параметров

Показатель	Значение (SD)	Скорректированное OR (95% CI)*	p
VWF:Ag, МЕ/мл	1,212 (0,391)	3,360 (1,562–7,228)	0,0019
МПО:Ag, нг/мл	0,060 (0,018)	1,062 (1,024–1,101)	0,0011

* С поправкой на все лабораторные показатели при $p < 0,20$ при однофакторном анализе: ЛДГ, креатинин, ПВ, АЧТВ, D-димер, ADAMTS-13:Ag, АСТ.

атинина, протромбинового времени, АЧТВ, D-димера, vWF:Ag, ADAMTS-13:Ag, МПО:Ag, соотношения ADAMTS-13:Ag/vWF:Ag и ADAMTS-13:Ак/vWF:Ag являлись факторами риска смертности. Многофакторный анализ с поправкой на все переменные с $p < 0,20$ в одномерном анализе показал, что концентрации в плазме крови vWF:Ag и МПО:Ag — единственные два параметра, увеличение значений которых независимо связано со смертностью (табл. 4).

На основе этих результатов был рассчитан упрощенный показатель смертности: $1,212 \times vWF:Ag + 0,06 \times \text{МПО:активность Ag}$, значения которой значительно выше у пациентов, не выживших в стационаре, по сравнению с выжившими пациентами ($p < 0,0001$).

Далее упрощенный показатель смертности был подвергнут с-статистическому анализу с целью оценки его способности к прогнозу исхода относительно выживаемости (рис. 3): значение AUC составило 0,851 (95%-й ДИ), $p = 0,0001$ (рис. 4). С использованием увеличенного показателя Юдена наилучшее дискриминационное значение оказалось равным 4,46: его чувствительность для прогнозирования отсутствия выживаемости составила 0,800 (0,659–0,892); специфичность — 0,837 (0,696–0,921); PPV — 0,837; LR+ — 4,914; NPV — 0,800; LR— — 0,239. Это соответствовало среднему значению упрощенного показателя смертности, наблюдавшемуся у пациентов.

На следующем этапе проведено сравнение выживаемости пациентов с упрощенным показателем смертности, превышающим ее медианное значение (значение высокой оценки), с выживаемостью пациентов со значением упрощенной оценки смертности ниже ее медианного значения (значение низкой оценки) (см. рис. 4). Анализ свидетельствует о том, что пациенты со значением упрощенной оценки смертности выше 4,46 имели значительно более низкую суммарную выживаемость, чем пациенты со значением упрощенной оценки смертности ниже 4,46 (логарифмический ранговый тест — $p < 0,0001$), 50% из них умерли на 13-й день после госпитализации.

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показывают, что увеличение в циркулирующей крови концентраций антигена vWF и МПО связано с худшей выживаемостью у пациентов с тяжелой формой COVID-19, находящихся в ОИТ на ИВЛ.

Ранее опубликованы результаты более 20 исследований, касающихся показателей отношения vWF:ADAMTS-13 и концентрации NETs у пациентов с COVID-19 [7–16]. Большинство из них выявили до-

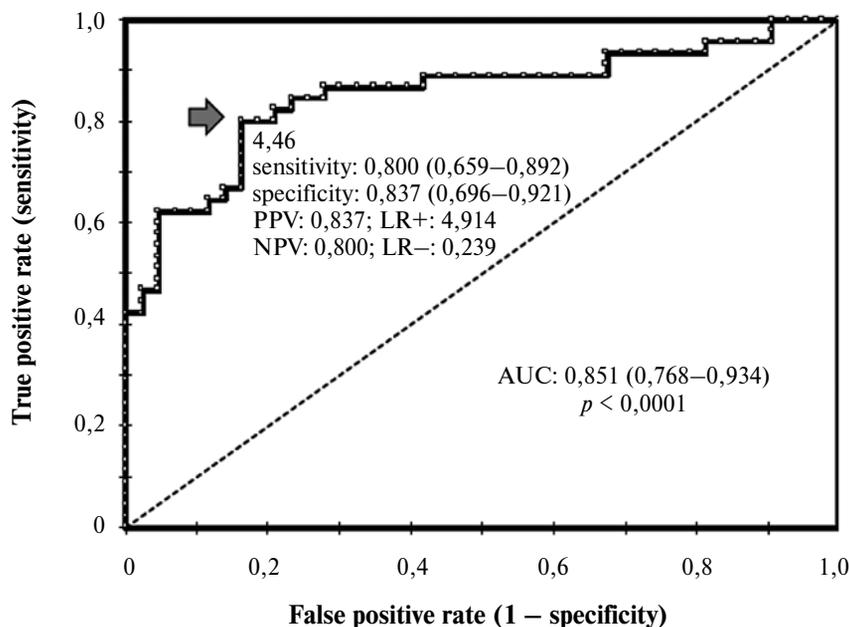


Рис. 3. Получение ROC-кривой (receiving operating characteristic) для ассоциации значений упрощенной оценки смертности, рассчитанной как $1,212 \times (\text{vWF:Ag, ME/мл}) + 0,06 \times (\text{МПО:Ag, нг/мл})$, с внутрибольничной смертностью

стоверную зависимость повышенных концентраций vWF и сниженной/нормальной активности ADAMTS-13 с тяжестью течения COVID-19 [17, 18]. В одном из крупных исследований, опубликованных A. Rauch et al. (243 взрослых пациента с COVID-19), снижение соотношения FVIII/ФВ:Ag при поступлении было в значительной степени связано с риском увеличения потребности в кислороде во время последующего наблюдения [19]. В некоторых исследованиях подчеркивается значение только концентрации vWF:Ag, в других — роль активности vWF, при этом в двух исследованиях, посвященных оценке роли высокомолекулярного vWF, были получены противоположные результаты [20–24].

В представленном нами исследовании оценка концентрации МПО привела к исчезновению маркеров, связанных с ADAMTS-13, в мультипараметрической модели, оценивающей выживаемость, но к сохранению показателя VWF:Ag. Это говорит о том, что клиническое значение патологической активации и дегрануляции циркулирующих миелоидных клеток — участников системы врожденного иммунитета при тяжелой инфекции SARS-CoV-2 является патогенетически более значимым, чем влияние, вызванное повышением концентрации ADAMTS-13, на эндотелий сосудов, который в этой ситуации не является сильным независимым модулятором прогностической ценности высоких концентраций

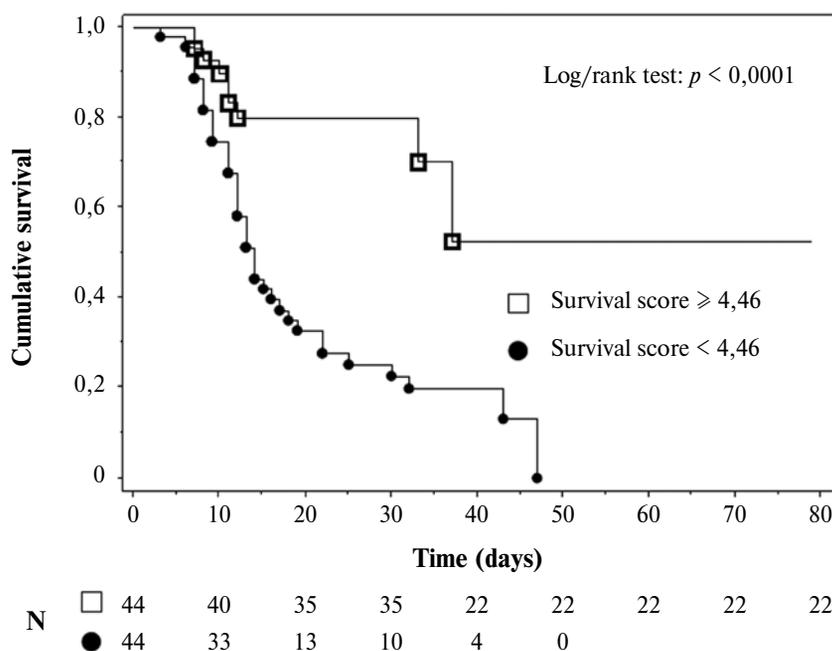


Рис. 4. Кумулятивная выживаемость пациентов с высоким и низким значениями показателя смертности

vWF, а сам по себе выступает вторым независимым предиктором смерти. Можно предположить, что в ситуации выраженных эндотелиальных повреждений на фоне чрезмерной активации гранулоцитов с высвобождением протеолитических ферментов, что имеет место во время системного «цитокинового шторма» при COVID-19 [25], интенсивность выделения высокомолекулярного фактора фон Виллебранда в очагах поражения превосходит регуляторную способность молекул ADAMTS-13 и устраняет этот показатель как предиктор неблагоприятного исхода.

Настоящее исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, поскольку среди госпитализированных с COVID-19 пациентов тяжелые формы встречаются довольно часто, группа пациентов, которых мы имели возможность изучить, ограничена. Не было возможности исследовать всех пациентов с тяжелой формой COVID-19, поступивших в ОИТ, и это могло вызвать систематическую ошибку при наборе группы. Во-вторых, исследование является моноцентровым и ретроспективным. В данном случае оправдано было бы проведение слепого, проспективного, многоцентрового исследования с большим количеством участников. Не удалось изучить активности, связанные с vWF, такие как vWF:RCO и vWF:COB [26], которые могут быть более эффективными предикторами клинических исходов, так как оценка концентрации циркулирующих высокомолекулярных мультимеров vWF имеет смысл, поскольку патогенез COVID-19 связан с эндотелиопатией. И наконец, оценка взаимосвязи vWF и МПО с концентрациями циркулирующих провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и TNF-альфа (α) может иметь большую прогностическую ценность, чем изолированные концентрации vWF и МПО.

Данное исследование имеет и ряд сильных сторон. Несмотря на то, что оно впервые демонстрирует, что определение МПО имеет прогностическое значение у тяжелых пациентов с COVID-19, находящихся на ИВЛ. Также показано, что концентрации МПО и vWF могут независимо оценивать прогноз выживаемости.

Заключение

В заключение отметим, что высокие концентрации МПО и vWF:Ag явились независимыми предикторами худшей выживаемости у пациентов с тяжелой формой

COVID-19, находящихся в ОИТ на ИВЛ. Необходимы дальнейшие проспективные исследования, во-первых, для проверки полученных данных на проспективной многоцентровой основе, во-вторых, для оценки влияния текущих терапевтических разработок на эти два фактора риска. Данные исследования могут явиться основой для старта разработок ингибиторов синтеза фактора фон Виллебранда, активации гранулоцитов и МПО в случае однозначного подтверждения верности продемонстрированной причинно-следственной связи.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) (номер гранта 20-04-60274).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов, о котором следует заявить. Все соавторы видели и согласны с содержанием рукописи, подтверждают отсутствие финансовой заинтересованности. Авторы подтверждают, что представленная работа является оригинальной и не находится на рассмотрении в каком-либо другом рецензируемом журнале.

Участие авторов. А.Д. Макацария — дизайн исследования, анализ данных, написание рукописи; Д.Х. Хизроева — дизайн исследования, анализ данных, написание рукописи; И. Шенфельд — редактирование и доработка рукописи, пересмотр списка литературы; М.В. Третьякова — сбор данных, ведение базы данных; Е.В. Слуханчук — сбор данных, ведение базы данных; А.С. Шкода — набор пациентов; Л.Л. Панкратьева — статистическая обработка данных; М.И. Петровский — статистическая обработка данных; И.В. Машечкин — статистическая обработка данных; Д.В. Блинов — дизайн исследования, анализ данных, написание рукописи; Ж.-К. Гри — редактирование и доработка рукописи, анализ данных, статистики и написание концепции статьи; В.О. Бицадзе — дизайн исследования, анализ данных, написание рукописи. Все авторы статьи внесли существенный вклад в организацию и проведение исследования, прочли и одобрили окончательную версию рукописи перед публикацией.

Выражение признательности. Авторы выражают благодарность всему медперсоналу, участвовавшему в процессе лечения пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- Bonaventura A, Vecchié A, Dagna L, et al. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2021;21:319–329. doi: <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00536-9>
- Landau N, Shoenfeld Y, Negru L, et al. Exploring the pathways of inflammation and coagulopathy in COVID-19: A narrative tour into a viral rabbit hole. *Int Rev Immunol.* 2021;22:1–9. doi: <https://doi.org/10.1080/08830185.2021.1993211>
- Макацария А.Д., Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., и др. Тромботический шторм, нарушения гемостаза и тромбовоспаление в условиях COVID-19 // *Акушерство, гинекология и репродукция.* — 2021. — Т. 15. — № 5. — С. 499–514. [Makatsariya AD, Slukhanchuk EV, Bitsadze VO, et al. Thrombotic storm, hemostasis disorders and thromboinflammation in COVID-19. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2021;15(5):499–514. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.247>
- Iba T, Levy JH, Levi M, et al. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(9):2103–2109. doi: <https://doi.org/10.1111/jth.14975>
- Макацария А.Д., Григорьева К.Н., Мингалимов М.А., и др. Коронавирусная инфекция (COVID-19) и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания // *Акушерство, гинекология и репродукция.* — 2020. — Т. 14. — № 2. — С. 123–131. [Makatsariya AD, Grigoreva KN, Mingalimov M.A., et al. Coronavirus disease (COVID-19) and disseminated intravascular coagulation syndrome. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2020;14(2):123–131. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17749/2313-7347.132>
- 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>
- Favaloro EJ, Henry BM, Lippi G. Increased VWF and Decreased ADAMTS-13 in COVID-19: Creating a Milieu for (Micro)

- Thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2021;47(4):400–418. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0041-1727282>
8. Fujimura Y., Holland LZ. COVID-19 microthrombosis: unusually large VWF multimers are a platform for activation of the alternative complement pathway under cytokine storm. *Int J Hematol.* 2022;115(4):457–469. doi: <https://doi.org/10.1007/s12185-022-03324-w>
 9. Hafez W, Ziade MA, Arya A, et al. Reduced ADAMTS-13 Activity in Correlation with Pathophysiology, Severity, and Outcome of COVID-19: A Retrospective Observational Study. *Int J Infect Dis.* 2022;117:334–344. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.02.019>
 10. Nguyen TC, Liu A, Liu L, et al. Acquired ADAMTS-13 deficiency in pediatric patients with severe sepsis. *Haematologica.* 2007;92(1):121–124. doi: <https://doi.org/10.3324/haematol.10262>
 11. Ruf W, Ruggeri Z. Neutrophils release brakes of coagulation. *Nat Med.* 2010;16(8):851–852. doi: <https://doi.org/10.1038/nm0810-851>
 12. Макацария А.Д., Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., и др. Внеклеточные ловушки нейтрофилов участие в процессах воспаления и дисрегуляции гемостаза, в том числе у пациентов с COVID-19 и тяжелой акушерской патологией // *Акушерство, гинекология и репродукция.* —2021. — Т. 15. — № 4. — С. 335–350. [Makatsariya AD, Slukhanchuk EV, Bitsadze VO, et al. Neutrophil extracellular traps: a role in inflammation and dysregulated hemostasis as well as in patients with COVID-19 and severe obstetric pathology. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2021;15(4):335–350. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.238>
 13. Pramitasuri TI, Laksmidewi AA, Putra IBK, et al. Neutrophil Extracellular Traps in Coronavirus Disease-19-Associated Ischemic Stroke: A Novel Avenue in Neuroscience. *Exp Neurol.* 2021;30(1):1–12. doi: <https://doi.org/10.5607/en20048>
 14. Loria V, Dato I, Graziani F, et al. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm.* 2008;2008:135625. doi: <https://doi.org/10.1155/2008/135625>
 15. Lissalde-Lavigne G, Combescure C, Muller L, et al. Simple coagulation tests improve survival prediction in patients with septic shock. *J Thromb Haemost.* 2008;6(4):645–653. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.02895>
 16. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) as markers of disease severity in COVID-19. *medRxiv.* 2020;2020.04.09.20059626. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20059626>
 17. Sweeney JM, Barouqa M, Krause GJ, et al. Evidence for secondary thrombotic microangiopathy in COVID-19. *medRxiv.* 2020;2020.10.20.20215608. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.20.20215608>
 18. Henry BM, Benoit SW, de Oliveira MHS, et al. ADAMTS-13 activity to von Willebrand factor antigen ratio predicts acute kidney injury in patients with COVID-19: Evidence of SARS-CoV-2 induced secondary thrombotic microangiopathy. *Int J Lab Hematol.* 2021;43(Suppl1):129–136. doi: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13415>
 19. Rauch A, Labreuche J, Lassalle F, et al. Coagulation biomarkers are independent predictors of increased oxygen requirements in COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(11):2942–2953. doi: <https://doi.org/10.1111/jth.15067>
 20. Ward SE, Curley GF, Lavin M, et al. Irish COVID-19 Vasculopathy Study (ICVS) Investigators. Von Willebrand factor propeptide in severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): evidence of acute and sustained endothelial cell activation. *Br J Haematol.* 2021;192(4):714–719. doi: <https://doi.org/10.1111/bjh.17273>
 21. Vassiliou AG, Keskinidou C, Jahaj E, et al. ICU admission levels of endothelial biomarkers as predictors of mortality in critically ill COVID-19 patients. *Cells.* 2021;10(1):186. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10010186>
 22. Tiscia GL, Favuzzi G, De Lorenzo A, et al. CSS COVID-19 Group. Reduction of ADAMTS-13 levels predicts mortality in SARS-CoV-2 patients. *TH Open.* 2020;4(3):e203–e206. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0040-1716379>
 23. Pascreau T, Zia-Chahabi S, Zuber B, et al. ADAMTS 13 deficiency is associated with abnormal distribution of von Willebrand factor multimers in patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2021;204:138–140. doi: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2021.02.008>
 24. De Jongh R, Ninivaggi M, Mesotten D, et al. Vascular activation is a strong predictor of mortality in coronavirus disease 2019 patients on the ICU. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2021;32(4):290–293. doi: <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000001007>
 25. Ryabkova VA, Churilov LP, Shoenfeld Y. Influenza infection, SARS, MERS and COVID-19: Cytokine storm — The common denominator and the lessons to be learned. *Clin Immunol.* 2021;223:108652. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108652>
 26. Ryabkova VA, Churilov LP, Shoenfeld Y. Influenza infection, SARS, MERS and COVID-19: Cytokine storm — The common denominator and the lessons to be learned. *Clin Immunol.* 2021;223:108652. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108652>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Макацария Александр Давидович, д.м.н., профессор, академик РАН [*Alexander D. Makatsariya*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; **адрес:** 119991, Москва, ул. Трубетская, д. 8-2 [**address:** 8-2 Trubetskaya str., 119991, Moscow, Russia]; **e-mail:** gemostasis@mail.ru, **SPIN-код:** 7538-2966, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7415-4633>

Хизроева Джамия Хизроевна, д.м.н., профессор [*Jamilya H. Khizroeva*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** jamatotu@gmail.com, **SPIN-код:** 8225-4976, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0725-9686>

Шенфельд Йегуда, доктор медицины, профессор [*Schoenfeld Yehuda*, MD, Professor]; **e-mail:** yehuda.shoenfeld@sheba.health.gov.il, **SPIN-код:** 5950-3930, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2802-4090>

Третьякова Мария Владимировна, к.м.н., доцент [*Maria V. Tretyakova*, MD, PhD, Assistant Professor]; **e-mail:** tretyakova777@yandex.ru, **SPIN-код:** 1463-0065, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3628-0804>

Слуханчук Екатерина Викторовна, к.м.н., доцент [*Ekaterina V. Slukhanchuk*, MD, PhD, Assistant Professor]; **e-mail:** beloborodova@rambler.ru, **SPIN-код:** 7423-8944, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7441-2778>

Шкода Андрей Сергеевич, д.м.н., профессор [*Andrei S. Shkoda*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** 67gkb@mail.ru, **SPIN-код:** 5388-7701, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9783-1796>

Панкратьева Людмила Леонидовна, д.м.н., профессор [*Lyudmila L. Pankratyeva*, MD, PhD, Professor];
e-mail: liudmila.pankratyeva@gmail.com, SPIN-код: 5465-1880, Scopus Author ID: 7006391091,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-4155>

Петровский Михаил Игоревич, к.ф.-м.н. [*Mikhail I. Petrovsky*, PhD in Physical and Mathematical Sciences];
e-mail: michael@cs.msu.su, SPIN-код: 3639-0239, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1236-398X>

Машечкин Игорь Валерьевич, д.ф.-м.н. [*Igor V. Mashechkin*, PhD in Physical and Mathematical Sciences];
e-mail: mash@cs.msu.su, SPIN-код: 6924-0704, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9837-585X>

Блинов Дмитрий Владиславович, к.м.н. [*Dmitry V. Blinov*, MD, PhD]; e-mail: blinov2010@googlemail.com,
SPIN-код: 9779-8290, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3367-9844>, Scopus Author ID: 6701744871,
Researcher ID: E-8906-2017

Грис Жан-Кристоф Раймонд, доктор медицины, д.м.н., профессор [*Jean-Christophe R. Gris*, MD, PhD, Professor];
e-mail: jean.christophe.gris@chu-nimes.fr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9899-9910>, Scopus Author ID: 7005114260

Бицадзе Виктория Омаровна, д.м.н., профессор [*Victoria O. Bitsadze*, MD, PhD, Professor]; e-mail: vikabits@mail.ru,
SPIN-код: 5930-0859, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8404-1042>