

Trombotické komplikace covid-19. Krátký přehled současných názorů

Jan F. Vojáček

1. interní kardiologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Kardiologie Bulovka, s.r.o., Praha

Trombotické komplikace u nemocných s covid-19 postihují cévy plic, končetin, sleziny, srdce, mozku a/nebo ledvin (1). Tyto komplikace jsou obvykle spojeny s multiorgánovým selháním a vysokou mortalitou. Plicní embolie a hluboká žilní trombóza jsou nejčastější trombotické příhody u covid-19 (1). Riziko venózní tromboembolie zůstává vysoké u hospitalizovaných pacientů navzdory antikoagulační profylaxi. Cytokiny, proteinové prozánětlivé mediátory, sloužící jako klíčová signalizační cesta, jsou zodpovědné za posun endoteliální funkce z homeostatické do obranného režimu. Kritické stadium covid-19 obvykle zahrnuje cytokinovou bouři, již dříve dobře popsanou pozitivní zpětnou vazbu, která řídí produkci cytokinů a zahrnuje protiregulační mechanismy. Studie pacientů s covid-19 prokázaly zvýšené hladiny krevních neutrofilů a neutrofilních extracelulárních pastí (NETs). Nemožností zabránit účinku zánětlivých cytokinů na endotel ovlivněním vzniku NET se vysvětluje selhání antikoagulancií při prevenci a léčbě trombotických komplikací covid-19.

Klíčová slova: trombóza, covid-19, NETs, cytokiny.

Thrombotic complications of covid-19: a brief review of current opinions

Thrombotic complications in covid-19 patients affect the vessels of the lungs, limbs, spleen, heart, brain and/or kidneys (1). These complications are typically associated with multiple organ failure and a high mortality rate. Pulmonary embolism and deep vein thrombosis are the most frequent thrombotic events in covid-19 (1). The risk of venous thromboembolism remains high in hospitalized patients in spite of anticoagulation prophylaxis. Cytokines, protein proinflammatory mediators serving as a key signalling pathway, are responsible for a shift of endothelial function from homeostatic to defensive mode. A critical covid-19 stage usually involves a cytokine storm, a previously well-described positive feedback which controls cytokine production and overwhelms antiregulatory mechanisms. Studies of covid-19 patients have shown elevated levels of blood neutrophils and neutrophil extra-cellular traps (NETs). The failure of anticoagulants in preventing and treating thrombotic complications of covid-19 is explained by an impossibility to inhibit the effect of inflammatory cytokines on the endothelium by influencing the development of NETs.

Key words: thrombosis, covid-19, NETs, cytokines.

Trombotické komplikace u nemocných s covid-19 postihují cévy plic, končetin, sleziny, srdce, mozku a/nebo ledvin (1). Tyto komplikace jsou obvykle spojeny s multiorgánovým selháním a vysokou mortalitou. Plicní embolie a hluboká žilní trombóza jsou nejčastější trombotické příhody u covid-19 (1). Riziko venózní tromboembolie zůstává vysoké u hospitalizovaných pacientů navzdory antikoagulační profylaxi (1). Výskyt žilních tromboembolických

příhod je udáván mezi 25 až 30 %, zejména u kriticky nemocných a mechanicky ventilovaných (1). Další trombotické komplikace, zahrnující cévní mozkové příhody, akutní ischemie končetin a akutní poškození myokardu, se mohou vyskytovat až u 5–20 % hospitalizovaných pacientů (1). Multisystémový zánětlivý syndrom u dětí (MIS-C) v důsledku infekce SARS-CoV-2 zvyšuje riziko koagulopatie i u pediatrické populace (1). Trombotické komplikace

se mohou vyskytnout i u nemocných s lehkým průběhem covid-19 nebo v rámci postcovidového syndromu, i když méně často než u nemocných s těžkým průběhem onemocnění.

Variabilní projevy covid-19 s kombinací patologických projevů na vícečetných orgánech včetně plic, srdce, mozku, ledvin a zjištění, že za orgánovou dysfunkcí stojí postižení cévního řečiště uvedených orgánů vedly k hypotéze, že covid-19, zejména pozdější

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

prof. MUDr. Jan F. Vojáček, DrSc., janvojacek@seznam.cz

1. interní kardiologická klinika LF UK a FN Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Cit. zkr: Interv Akut Kardiolog 2021; 20(2): 98–101

Článek přijat redakcí: 24. 5. 2021

komplikovaná stadia, představují endoteliální onemocnění (2).

Cytokiny, proteinové prozánětlivé mediátory, sloužící jako klíčová signální cesta, jsou zodpovědné za posun endoteliální funkce z homeostatické do obranného režimu. Kritické stadium covid-19 obvykle zahrnuje cytokinovou bouři, již dříve dobře popsanou pozitivní zpětnou vazbu, která řídí produkci cytokinů a zahrnuje protiregulační mechanismy (2).

Několik autorů demonstrovalo přítomnost virových částic SARS-CoV-2 v endoteliálních buňkách a difuzní endoteliální zánět (3–6). Postiženy byly endoteliální buňky napříč cévními lůžky různých orgánů u řady pacientů s covid-19. Virus využívá receptor angiotenzin-konvertujícího enzymu 2 (ACE2) exprimovaný pneumocyty v epitelové alveolární sliznici k infikování hostitele, čímž způsobuje poškození plic, receptor ACE2 je také široce exprimován na endoteliálních buňkách nejrozličnějších orgánů (4). Recruitment imunitně aktivních buněk, buď přímou virovou infekcí endotelu nebo imunitně zprostředkovaně, může vést k rozsáhlé endoteliální dysfunkci.

Normální endoteliální povrch je hemokompatibilní v důsledku celé řady spontánních antikoagulačních mechanismů: proteoglykan heparan sulfát (HSPG) kryje povrch endotelu a tyto molekuly váží antitrombin (dříve nazývaný antitrombin III) (stejně jako například i hepariny). Endoteliální povrch dále nese trombomodulin, který nejenže vyvazuje trombin, ale i stimuluje antikoagulačně působící protein C a S. Endoteliální buňky dále produkují inhibitor cesty tkáňového faktoru (TFPI = Tissue Factor Pathway Inhibitor), který inhibuje tkáňový faktor – základní spouštěcí mechanismus trombózy, již dříve identifikovaný spojovací článek trombózy a zánětu – včetně virových infekcí (7).

Endoteliální buňky jsou účinné i v omezení aktivace krevních destiček. Tato funkce závisí na produkci ekto-ADPázy a CD39, jakož i na uvolňování oxidu dusnatého (NO) a prostacyklinu.

Uvolňování NO způsobuje zvýšení průtoku krve vazodilatací, a tím významně přispívá ke snížení srážlivosti.

Vedle výše uvedených faktorů se proti tvorbě intravaskulárních krevních sraženin

za normálních okolností účastní i spontánní fibrinolýza. Endoteliální buňky produkují aktivátory plasminogenu, a to jak tkáňový plasminogenový aktivátor (tPA), tak urokinázový aktivátor plasminogenu (uPA) (2).

Endoteliální buňka za normálních okolností nemá prokoagulační potenciál. Nicméně, po stimulaci prozánětlivými cytokiny, jako jsou bakteriální endotoxiny nebo neutrofilní extracelulární pasti (NETs), exprimuje endoteliální buňka vysoce afinní transmembranózní celulární receptor – tkáňový faktor (TF), který aktivuje koagulační systém po navázání faktoru (F)VII/VIIa. Komplex TF-FVIIa je primární iniciátor koagulace, ale i dalších signálních cest (zánět).

Endoteliální buňka také obsahuje vonWillebrandův faktor (vWF) v intracelulárních granulích (Weibel-Paladeova tělíska). Po aktivaci endoteliální buňky mohou uvolnit tento protein, který funguje jako most pro destičkovou adhezi a následnou agregaci (2).

Zatímco přítomnost neutrofilů v trombu je známa po dlouhou dobu, jejich přesná mechanická úloha v tvorbě trombu nebyla do nedávna dobře charakterizována. Nejnovější práce nyní ukazují, jak neutrofilní extracelulární pasti (NETs = neutrophil extracellular traps) a mikročástice odvozené z neutrofilů (neutrophil derived microparticles = NMPs) přispívají k trombóze. V roce 2004 Brinkmann se spolupracovníky objevili proces NETózy, kdy neutrofilní leukocyty vylučují materiál svého jádra v síťovinu známé jako neutrofilní extracelulární pasti NETs. Právě tento proces programované smrti neutrofilů je nazýván NETózou (proces představuje další specifický obranný mechanismus a stojí vedle nekrózy nebo apoptózy). Během NETózy uvolňují neutrofilní extracelulární chromatin spojený s cytoplazmatickými granulemi. Vedle toho byla rozpoznána **vitální NETóza** jako další mechanismus, kdy neutrofilní zůstávají životaschopné a schopné určitých funkcí po uvolnění NET. NETóza může být vyvolána během několika minut, chromatin se uvolňuje z jádra a přes cytoplazmu je přepraven ve vezikulách, které obsahují NET, ty fuzují s cytoplazmatickou membránou a NET se uvolňují extracelulárně bez prasknutí membrány.

Tato forma **imunotrombózy** je proces, který hraje významnou roli v obraně hostite-

le tím, že NETs zachycují a zabíjejí patogeny na úkor podpory trombózy. Extracelulární chromatin, někdy obsahující citrulinované histony, byl detekován v arteriálním, žilním a mikrovaskulárních trombech u lidí i u zvířat. Mechanismy, kterými NET podporují trombózu, jsou však nejasné. Zdá se, že jsou multifaktoriální, se zapojením krevních buněk, rozpustných složek plazmy, stěny cévy a poruch průtoku krve (8).

NETs uvolněné do intravaskulárního prostoru pevně přilnou ke stěně cévy, odolávají průtoku a způsobují endoteliální poškození, pravděpodobně zprostředkované cytotoxickými účinky neutrofilních enzymů, histonů a/nebo HMGB1 (High-mobility group box 1). Kromě toho NETs poskytují povrch pro vazbu různých cirkulujících koagulačních složek včetně krevních destiček, leukocytů, červených krvinek, a faktorů srážlivosti, které společně podporují tvorbu trombinu a tvorbu trombu (8).

Studie pacientů s covid-19 prokázaly zvýšené hladiny krevních neutrofilů a neutrofilních extracelulárních pastí (NETs). Tak v případové kontrolní studii pacientů hospitalizovaných s covid-19 v Univerzitní nemocnici v Ann Arbor, Michigan nemocní, u kterých se vyvinula trombóza, byli srovnáni s nemocnými s covid-19 shodných pohlavím a věkem bez klinické trombózy. Zbytky NET (mimobuněčná DNA, komplexy myeloperoksidázy a DNA a citrulinovaného histonu H3) a z neutrofilů odvozeného S100A8/A9 (calprotectin) v séru nemocných byly spojeny s vyšším rizikem trombotických příhod navzdory profylaktické antikoagulaci (9).

Nemožností zabránit účinku zánětlivých cytokinů na endotel ovlivněním vzniku NET se vysvětluje selhání antikoagulačních při prevenci a léčbě trombotických komplikací covid-19 (J. Kvasnička – ústní sdělení)..

Mikročástice (microparticles = MPs) jsou malé vezikuly o průměru 100–1 000 nm, tvořené z fosfolipidové dvojvrstvy a z buněčných povrchových proteinů. Mikročástice jsou po aktivaci nebo apoptóze uvolněny z povrchu buňky a jejich povaha se může lišit v závislosti na podnětu a buňce původu. Mikročástice byly poprvé popsány jako „destičkový prach“ v roce 1967 a předpokládalo se, že obsahují destičkový faktor 3 (nebo TF). Jejich role v trombóze, zánětu a mezibuněčné výměnné

signalizaci je nyní dobře známá. MPs mohou podporovat vznik trombu prostřednictvím různých mechanismů. Významným mechanismem přispívajícím k trombóze je exprese tkáňového faktoru na povrchu mikročastic, ten se kombinuje s FVII/VIIa a aktivuje FIX, čímž aktivuje i koagulační kaskádu. Krevní destičky byly původně považovány za hlavní zdroj mikročastic v trombóze. Nicméně, nyní se má za to, že mikročástice exprimující TF jsou většinou odvozeny z linie monocytů/makrofágů, což je známý zdroj mikročastic, které přispívají k aktivaci koagulační kaskády. I když byla exprese TF na neutrofilech poprvé popsána téměř před 40 lety, nyní mnohočetné výzkumy postrádají solidní důkazy o schopnosti neutrofilů produkovat TF. Proto původ TF na neutrofilech zůstává otázkou kontroverze. Pripouštěná exprese TF na změnách endoteliálních buňkách je stejně předmětem výzkumu a zdrojem kontroverze (8, 10).

Endotel rovněž slouží jako portál upravující vstup leukocytů do tkání při mikrobiální nebo virové infekci a pro reparaci poranění. Souhra endotelu s leukocyty a mediátory vrozené a adaptivní imunity závisí na řadě molekul adheze leukocytů produkovaných na zanedbatelných úrovních za fyziologických okolností. Jednotlivé složky třídy selektinových molekul adheze leukocytů ovlivňují průchod leukocytů krve přes endoteliální povrch zprostředkováním rolování těchto buněk. E-selectin (CD62E) je určen pro polymorfonukleární leukocyty, P-selectin (CD62P) a L-selectin (CD62L) také zprostředkují interakci endoteliálního povrchu s různými třídami krevních leukocytů. Zvýšená exprese selektinů závisí na výskytu patologických podnětů, především prozáplňlivých cytokinů, jako jsou interleukiny

1a (IL-1a) a IL-1b nebo tumor nekrotizující faktor- α (TNF- α).

Pevná vazba leukocytů na aktivovaný endoteliální povrch závisí na molekulách adheze kategorie IgG. Tyto molekuly zahrnují molekulu mezibuněčnou adheze-1 (ICAM-1, CD54) a molekulu adheze cévních buněk-1 (VCAM-1, CD106).

Cytokinová bouře u covid-19 mění homeostatické funkce endoteliálních buněk a přispívá k trombóze a poškození místní tkáně. Cytokiny jako IL-1a a IL-1b, IL-6 a TNF- α které jinak běžně přispívají k zajištění obraných reakcí organismu, jsou produkovány překotně s nekontrolovanou genovou expresí a kromě lokálních účinků, vede IL-6 k odpovědi akutní fáze, zvyšuje syntézu fibrinogenu, PAI-1 – hlavního inhibitoru endogenních fibrinolytických mediátorů a C-reaktivního proteinu, biomarkeru zánětu, který konzistentně stoupá u covid-19. Indukce IL-6 v důsledku nadprodukce IL-1 poskytuje amplifikační smyčku, která přispívá ke kaskádě nadprodukce cytokinů a vzniku cytokinové bouře. Komplikace covid-19 odpovídají lokálně místům nadměrných cytokinových účinků na endoteliální buňky (2).

U nemocných s pneumonií v důsledku infekce SARS-CoV-2 dochází k dysregulaci endoteliálních funkcí, která přispívá k závažnosti onemocnění covid-19. Zhoršená funkce endoteliální bariéry může přispívat k akumulaci bílkovin v alveolech, akumulaci tekutiny a zhoršenému okysličení krve a vzniku ARDS. Dysregulace funkce endotelu ale přispívá i ke vzniku trombózy in situ v plicním cévním řečišti, jak se vyskytuje u covid-19 (2).

Změny endoteliální tromboticko-fibrinolytické rovnováhy mohou přispívat ke vzniku trombózy nejen v plicním oběhu, ale také v oběhu periferních žil a tepen mozku, což způsobuje mozkové cévní příhody u zdánlivě zdravých mladých lidí a nepochybně přispívá-

ní k místnímu a nerovnoměrnému zpomalení průtoku krve nohou („COVID toes“), které pravděpodobně představují mikrovaskulární dysfunkci s tkáňovou ischemií. Trombózy se mohou vyskytovat ve všech arteriálních povodích v mikrocirkulaci, včetně koronárního oběhu a cév ledvin (2).

U hospitalizovaných nemocných s podezřením nebo potvrzeným covid-19 je doporučováno provedení koagulačního profilu, včetně D-dimeru, parciálního tromboplastinového času, počtu krevních destiček a fibrinogenu. Změny těchto parametrů mohou nastat 7–11 dní po nástupu příznaků nebo 4–10 dní po hospitalizaci. Opakování těchto koagulačních parametrů (D-dimer, protrombinový čas a počet krevních destiček) se doporučuje u pacientů se závažným covid-19, alespoň každé 2–3 dny. Kombinace trombocytopenie, prodlouženého PT a zvýšeného D-dimeru naznačuje, že DIC u covid-19 se liší od prezentace v sepsi, kde je trombocytopenie mnohem hlubší a hodnoty D-dimeru nedosahují hodnot pozorovaných u covid-19. Současné názory naznačují, že koagulopatie spojená s covid-19 je kombinace DIC nízkého stupně a plicní trombotické mikroangiopatie, která by mohla mít významný dopad na orgánovou dysfunkci u většiny pacientů se závažným onemocněním (11).

Snaha ovlivnit trombotické komplikace covid-19 vedla k podávání antikoagulačních léků typu nízkomolekulárního heparinu, fondaparinu, DOACs nebo protideštičkových léků. Podání NMH je běžné zejména u pacientů na JIP a v současné době probíhá několik studií k testování účinku a určení nejlepší dávky. Předběžné výsledky studií zatím nejsou povzbuzující, nicméně další velké studie probíhají (12, 13).

Podpořeno projektem Progres Q 40/03.

LITERATURA

1. Ali MAM, Spinler SA. Covid-19 and thrombosis: From bench to bedside. *Trends in Cardiovascular Medicine* 2021; 31: 143–160.
2. Libby P, Lüscher T. Covid-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur Heart J* 2020; 41: 3038–3044. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa623.
3. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Endothelial cell infection and endothelitis in Covid-19. *Lancet (London, England)* 2020; 395: 1417–1418.
4. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. Pulmonary Vascular Endo-

- thelitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383(2): 120–128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432.
5. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N, Frank S, Turek D, Willi N, Pargger H, Bassetti S, Leuppi JD, Cathomas G, Tolnay M, Mertz KD, Tzankov A. Post-mortem examination of covid-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings of lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology* 2020; 77(2): 198–209. doi: 10.1111/his.14134. Epub 2020 Jul 5.
6. Colmenero I, Santonja C, Alonso-Riaño M, Noguera-Morel L, Hernández-Martín A, Andina D, Wiesner T, Rodríguez-Peralto JL,

- Requena L, Torrolo A. SARS-CoV-2 endothelial infection causes covid-19 chilblains: histopathological, immunohistochemical and ultra-structural study of 7 paediatric cases. *Br J Dermatol* 2020; 183(4):729–737. doi: 10.1111/bjd.19327. Epub 2020 Aug 5.
7. Vojacek JF. Should We Replace the Terms Intrinsic and Extrinsic Coagulation Pathways With Tissue Factor Pathway? *Clin Appl Thromb Hemost*. 2017; 23(8): 922–927. doi: 10.1177/1076029616673733. Epub 2016 Oct 18. PMID: 28301900.
8. Denis F. Noubouossie, Brandi N. Reeves, Brian D. Strahl, and Nigel S. Key. Neutrophils: back in the thrombosis spotlight *Blood*. 2019; 133(20): 2186–2197. Prepublished on-

line 2019 Mar 21. doi: 10.1182/blood-2018-10-862243: 10.1182/blood-2018-10-862243 PMID: PMC7218731 PMID: 30898858.

9. Yalavarthi S, Zuo Y, Zuo M, et al. Neutrophil extracellular traps and thrombosis in covid-19. Comparative Study. J Thromb Thrombolysis 2021; 51(2): 446–453. doi: 10.1007/s11239-020-02324-z. Epub 2020 Nov 5.

10. Kapoor S, Opneja A, Nayak L. The Role of Neutrophils in Thrombosis Thromb Res. 2018; 170: 87–96. doi: 10.1016/j.thromres.2018.08.005.

11. Gómez-Mesa J, Galindo-Coral S, Montes MC, Muñoz Martín AJ. Thrombosis and Coagulopathy in COVID-19. Curr Probl Cardiol 2021; 46: 100742 0146–2806. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2020.100742>. Epub 2020 Nov 2.

12. Casale M, Imbalzano E, Morabito C, et al. Early antithrombotic therapy and covid-19: a better clinical course? New evidences from real-life cases, Cor Vasa 2020; 62(Suppl. 1): 37–40.

13. Karetová D, Bultas J. Koagulopatie provázející těžší formy koronavirové infekce (covid-19) – incidence trombotických komplikací, jak jim předcházet a jak je léčit. Cor Vasa 2020; 62(Suppl. 1): 22–26.