

LETTRES À L'ÉDITEUR

# Les histones circulantes jouent un rôle central dans la coagulopathie et la mortalité associées au COVID-19

[Rebecca J. Shaw](#), [Simon T. Abrams](#), [James Austin](#), [Joseph M. Taylor](#), [Steven Lane](#), [Tina Dutt](#), [Colin Downey](#), [Min Du](#), [Tortue lance](#), [J. Kenneth Baillie](#), [Peter JM Openshaw](#), [Guozheng Wang](#), [Malcolm G. Semple](#), [Cheng-Hock Toh](#)

Vol. 106 n° 9 (2021) : septembre 2021 <https://doi.org/10.3324/haematol.2021.278492>

ARTICLECHIFFRES ET DONNÉESINFOS ET MÉTRIQUES

COVID-19 a mis en évidence les conséquences mortelles de l'immunothrombose ; c'est-à-dire l'interaction entre la coagulation, l'inflammation et le système immunitaire inné. Les patients atteints d'immunothrombose ont une mort cellulaire immunitaire importante, <sup>1</sup> qui peut libérer des procoagulants <sup>2</sup> et des cytotoxiques <sup>3</sup> histones. Les histones sont de petites protéines chargées positivement qui se trouvent généralement dans le noyau cellulaire et qui se lient à l'ADN chargé négativement. Nous émettons l'hypothèse que les histones circulantes jouent un rôle central chez les patients COVID-19 gravement malades. Cette étude translationnelle démontre que les niveaux d'histones à l'admission sont significativement élevés avec la gravité croissante de l'infection au COVID-19 (léger, médian = 2,6 g/mL [IQR = 0,7-7,6], modéré, 10,5 µg/mL [3,5-27,2], critique, 20,0 g/mL [6,2-33,0], non-survivants, 29,6 g/mL [11,2-60,0] ;  $P < 0,001$ ). Histones circulantes associées à des marqueurs de coagulopathie sévère, d'inflammation et de lésions organiques, y compris la troponine cardiaque. Les niveaux d'histones extracellulaires à l'admission sont associés à de mauvais résultats et prédisent indépendamment la mortalité à 28 jours des patients COVID-19 hospitalisés. Il s'agit du premier rapport à indiquer que les histones circulantes, libérées après la mort des cellules immunitaires, peuvent jouer un rôle pathologique central dans l'infection sévère par le SRAS-CoV-2.

COVID-19 a été la cause de plus de deux millions de décès dans le monde en février 2021, <sup>4</sup> résultant d'une insuffisance respiratoire et multiviscérale, <sup>5</sup> avec des signes de thrombose pulmonaire à l'autopsie. <sup>6</sup> Ces patients ont une mort cellulaire immunitaire étendue, <sup>1</sup> une forte réponse inflammatoire en phase aiguë et une coagulopathie, ainsi que des lésions cardiaques. <sup>1</sup>, <sup>5</sup> La mort cellulaire peut libérer des histones, et les histones extracellulaires sont cytotoxiques, pro-inflammatoires <sup>7</sup> et pro-coagulantes, <sup>2</sup> conduisant à une thrombose pulmonaire. <sup>8</sup> Les histones extracellulaires déclenchent également la libération d'interleukine-6 (IL-6) pour induire une réponse de phase aiguë, y compris une élévation de la protéine C-réactive (CRP), qui, à son tour, réduit la toxicité des histones. <sup>9</sup> Des niveaux élevés d'histones circulantes initient une voie de coagulation alternative pendant la septicémie, <sup>2</sup> entraînent des lésions multiviscérales <sup>3</sup> et sont en corrélation avec des résultats cliniques indésirables, y compris la mort. <sup>10</sup> Nous avons donc émis l'hypothèse que des niveaux élevés d'histones sont présents dans les infections sévères par le SRAS-CoV-2 et agissent comme des médiateurs majeurs de la coagulopathie et de la mortalité dans la maladie COVID-19.

Dans cette étude, des adultes Covid-19 patients (n = 113) ont été recrutés à l'hôpital Royal Liverpool University du 30<sup>e</sup> Mars 2020-16<sup>e</sup> mai 2020. Les patients ont été sélectionnés par l'OMS ISARIC Protocole Caractérisation clinique pour les infections émergentes graves au Royaume - Uni . Les critères d'inclusion étaient : (1) écouvillonnage positif ou forte probabilité d'infection ou (2) ≥1 des symptômes suivants : fièvre ≥38°C, nouvelle toux, dyspnée ou tachypnée et admission dans un établissement de santé. <sup>11</sup> Les patients ont été classés en quatre groupes : 1) Léger (symptômes respiratoires mineurs pour exclure l'essoufflement OU découverte fortuite, où le patient a dû être hospitalisé pour des raisons autres que COVID-19 (comme la fragilité) et était par ailleurs asymptomatique de COVID-19); 2) Modéré (dyspnée, c'est-à-dire patient symptomatique avec essoufflement OU hypoxie, défini par des saturations en oxygène à l'oxymètre de pouls 93 % ou nécessitant un supplément d'oxygène pour maintenir des saturations en oxygène ≥ 96 %) ; 3) Maladie

critique (insuffisance respiratoire nécessitant l'administration d'une pression positive continue (CPAP) pour maintenir des saturations en oxygène  $\geq 96\%$  OU une ventilation invasive en milieu de soins intensifs) ; 4) Non-survivants (patients décédés dans les 28 jours suivant l'admission à l'hôpital).

Les histones circulantes ont été quantifiées dans le plasma du patient à l'admission (comme décrit précédemment) [8](#), [12](#) et les associations avec la gravité de l'infection, la coagulation, les marqueurs inflammatoires et les lésions organiques ont été analysées. La gravité de l'infection a été déterminée par l'état clinique le plus grave du patient tout au long de son admission à l'hôpital, selon les définitions décrites précédemment. Les cytokines ont été mesurées à l'aide d'un réseau de billes à base de Luminex, conformément aux instructions du fabricant (Thermo-Fisher Scientific). Les mesures des résultats comprenaient les jours de ventilation assistée, la durée du séjour à l'hôpital et la mortalité à 28 jours. L'approbation éthique a été fournie par le South Central - Oxford C Research Ethics Committee en Angleterre (Réf 13/SC/0149), le Scotland A Research Ethics Committee (Réf 20/SS/0028) et le Comité d'éthique de l'OMS (RPC571 et RPC572, 25 avril 2013). L'approbation locale a été accordée par le North West - Haydock Research Ethics Committee (REC référence 20/NW/0332).

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer des variables continues, présentées sous forme de médiane (intervalle interquartile ; IQR) ; le test Fisher Exact/ $\chi^2$  [2](#) pour la comparaison des variables catégorielles, présentées sous forme de nombres (pourcentage). Les niveaux d'histones circulantes ont été mesurés par Western Blot, en utilisant l'histone purifiée comme standard, et analysés soit en tant que variables continues, soit classés en fonction d'un seuil de cytotoxicité préalablement déterminé (30 g/mL). [3](#), [7](#) Le test Mann-Whitney U a été utilisé pour comparer les niveaux catégoriques d'histones aux variables cliniques continues. L'analyse de corrélation a été effectuée en utilisant le rang de Spearman. Une analyse de la courbe des caractéristiques de fonctionnement du récepteur (ROC) et une régression multivariée (ajustée en fonction de l'âge, du sexe, de l'origine ethnique et des comorbidités) ont évalué les niveaux d'histones à l'admission pour prédire la mortalité à 28 jours. Une analyse de la courbe de survie de Kaplan-Meier a été réalisée pour analyser la probabilité de mortalité au fil du temps. Des tests statistiques ont été effectués sur SPSS (IBM, version 25). Une valeur  $P$  bilatérale  $< 0,05$  a été considérée comme significative.

L'étude a porté sur 113 patients COVID-19 ([tableau 1](#)) : âge médian 65,0 ans (IQR = 51,0-78,0 ans), 65 patients étaient de sexe masculin (57,5%), 96 d'origine ethnique blanche (85,0%). La gravité de la maladie était associée à l'activation de la coagulation ([tableau 1](#)), caractérisée par des D-dimères élevés ( $P = 0,017$ ) et un temps de Quick prolongé ( $P = 0,005$ ), et un phénotype pro-inflammatoire caractérisé par une CRP élevée ( $P < 0,001$ ) et une IL-6 ( $P = 0,002$ ) à l'admission à l'hôpital, ainsi qu'en cas d'hypoxie et de lésion cardiaque ([Tableau 1](#)). La durée d'hospitalisation médiane était de 10 jours (IQR, 3-20 jours) et 25 patients (22,1%) sont décédés dans les 28 jours.

Les taux d'histones circulantes à l'admission étaient significativement élevés chez les patients COVID-19 par rapport aux témoins normaux et étaient associés à une sévérité croissante de l'infection ([figure 1A](#) et B ; témoins sains, médiane = 2,9 g/mL [IQR = 1,5-3,3] ; léger, 2,6 g/mL [0,7-7,6] ; Modéré, 10,5 g/mL [3,5-27,2] ; Critique, 20,0 g/mL [6,2-33,0] ; Non-survivants, 29,6 g/mL [11,2-60,0] ;  $P < 0,001$ ). Les niveaux d'histones circulantes étaient fortement corrélés aux niveaux de D-dimères ( $R = 0,606$ ), indiquant l'implication potentielle des histones extracellulaires dans la coagulopathie COVID-19. Une association positive avec des marqueurs de lésions organiques, y compris la bilirubine ( $R=0,531$ ), la créatinine ( $R=0,501$ ) et la troponine cardiaque ( $R=0,486$ ), indique le rôle possible de la cytotoxicité induite par les histones dans les lésions de plusieurs organes. De fortes associations avec le fibrinogène ( $R=0,632$ ), la CRP ( $R=0,735$ ) et l'IL-6 ( $R=0,677$ ) ont confirmé la réponse de phase aiguë initiée par les histones. [9](#) Une corrélation négative avec le nombre de lymphocytes ( $R = -0,446$ ) suggère que la mort des lymphocytes et d'autres cellules immunitaires pourrait être une source majeure d'histones circulantes dans l'infection par COVID-19.

En adoptant un seuil d'histones cytotoxiques de 30 g/mL, [3](#), [7](#) patients au-dessus du seuil ( $n=29$ ) avaient des D-dimères significativement plus élevés (2267,0 ng/mL [1227,0-5235,0] vs 1128,0 ng/mL [589,0-1844,3],  $P = 0,001$ ), fibrinogène (6,6 g/L [4,6-7,6] vs 4,8 g/L [3,9-5,7],  $P = 0,012$ ), IL-6 (226,2 pg/mL [90,6-518,9] vs 71,8 pg/mL [35,2-111,4],  $P < 0,001$ ) et les taux de CRP (186 mg/L [108,5-247,5] contre 48,0 mg/L [10,0-107,5],  $P < 0,001$ ) que les patients en dessous du seuil ([Tableau 2](#)). Ces patients présentaient également une SpO2 significativement réduite par rapport à ceux ayant des histones circulantes  $< 30$  g/mL (saturation en oxygène 92,0 % [85,8-94,0] vs 95,0 % [93,5-97,0],  $P = 0,001$ ), nécessitaient une admission en soins intensifs ( $P < 0,001$ ), avec une durée de ventilation mécanique plus longue ( $R=0,635$ ) et une hospitalisation plus longue ( $R=0,654$ ).

Les taux d'histones circulantes étaient significativement plus élevés chez les non-survivants que chez ceux qui ont survécu (29,6 g/mL [11,2-60,0] contre 8,6 g/mL [3,1-24,8],  $P = 0,002$ ), et, par conséquent, les patients avec des histones > 30 µg /mL étaient plus susceptibles de mourir (13/29 [44,8%] vs 12/84 [14,3%],  $P = 0,001$ ). Les patients décédés étaient significativement plus âgés que ceux qui ont survécu ( [tableau 2](#) , 76 ans [66-86] vs 59 ans [46-72]  $P < 0,001$ ). Comparativement aux survivants, les non-survivants présentaient des signes de coagulopathie de consommation avec une numération plaquettaire inférieure (  $P = 0,003$ ), un temps de Quick prolongé (  $P = 0,028$ ), des D-dimères élevés (  $P = 0,017$ ) et des taux d'antithrombine réduits (  $P = 0,048$ ). De plus, chez les non-survivants, le nombre de lymphocytes (  $P = 0,001$ ) et les saturations en oxygène (  $P = 0,005$ ) étaient significativement réduits, et l'IL-6 (  $P = 0,021$ ), la CRP (  $P = 0,013$ ), la troponine (  $P < 0,001$ ), la bilirubine (  $P = 0,041$ ) et la créatinine (  $P = 0,024$ ) étaient élevées par rapport aux survivants ( [Tableau 2](#) ).

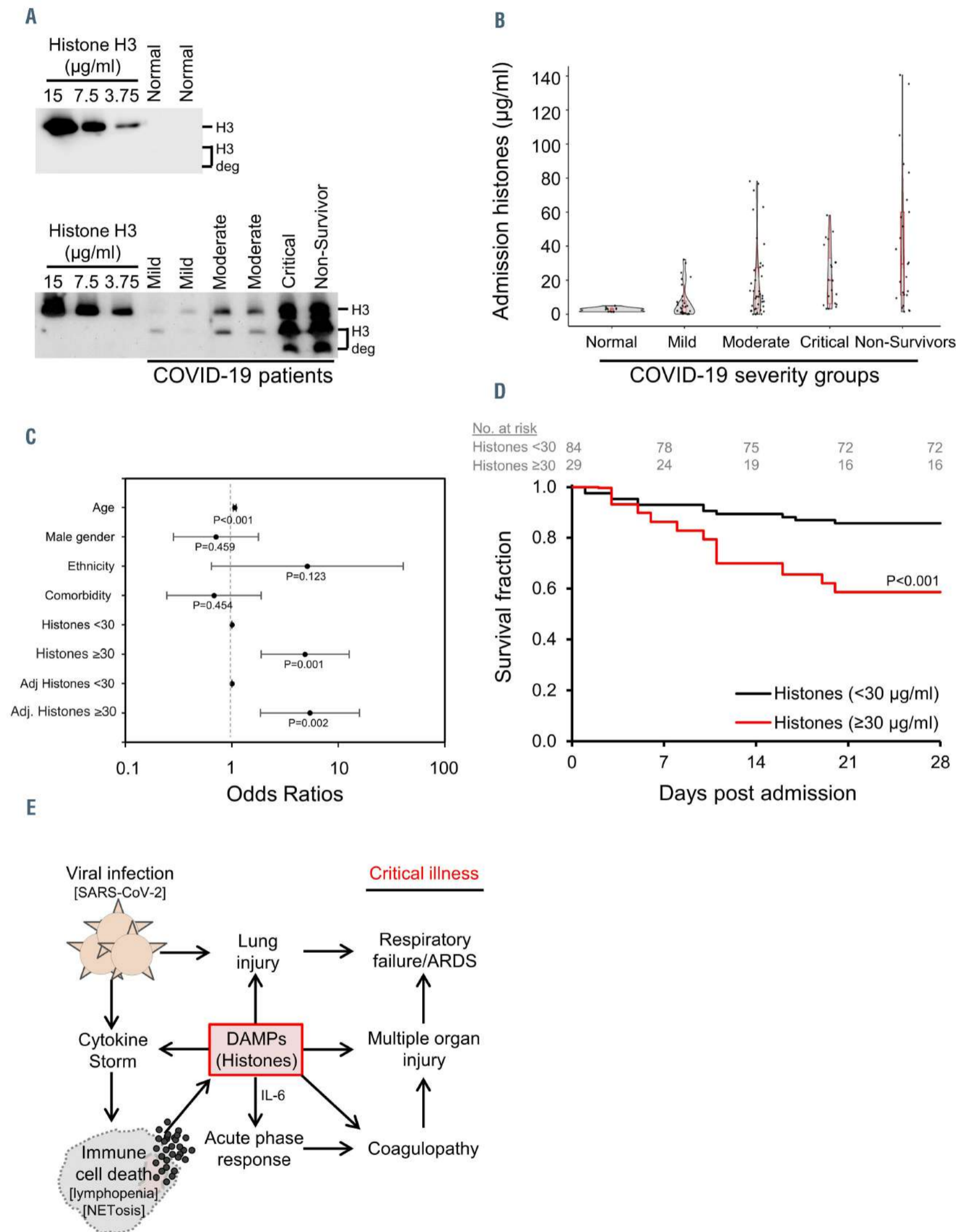
	Total	Mild	Moderate	Critical	Non-survivors	P value <sup>a</sup>
Total number	113	30	38	20	25	–
<b>Demographics &amp; Comorbidities</b>						
Age (years), Median [IQR]	65.0 [51.0, 78.0]	63.5 [42.0, 70.0]	67.0 [57.5, 81.5]	51.0 [42.8, 54.5] <sup>*,‡</sup>	76.0 [66.0, 86.0] <sup>*,‡</sup>	<b>&lt;0.001</b>
Male, No. [%]	65 [57.5]	15 [50.0]	20 [52.6]	14 [70.0]	16 [64.0]	0.428
White ethnicity, No. [%]	96 [85.0]	26 [86.7]	35 [92.1]	11 [55.0]	24 [96.0]	<b>0.001</b>
Smoking history, No. [%]	38 [33.6]	10 [33.3]	16 [42.1]	4 [20.0]	8 [32.0]	<b>0.033</b>
Hypertension, No. [%]	36 [31.9]	8 [26.7]	12 [31.6]	5 [25.0]	11 [44.0]	0.474
Asthma/COPD, No. [%]	29 [25.7]	14 [46.7]	10 [26.3]	1 [5.0]	4 [16.0]	<b>0.005</b>
Diabetes mellitus, No. [%]	29 [25.7]	5 [16.7]	10 [26.3]	5 [25.0]	9 [36.0]	0.443
Ischemic heart disease, No. [%]	16 [14.2]	3 [10.0]	8 [21.1]	0 [0.0]	5 [20.0]	0.116
Chronic kidney disease, No. [%]	15 [13.3]	3 [10.0]	10 [26.3]	0 [0.0]	2 [8.0]	<b>0.025</b>
Histones (µg/mL), Median [IQR]	10.8 [3.2, 29.9]	2.6 [0.7, 7.6]	10.5 [3.5, 27.2] <sup>*</sup>	20.0 [6.2, 33.0] <sup>*</sup>	29.6 [11.2, 60.0] <sup>*,‡</sup>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Peripheral blood cell counts</b>						
White blood cells (x10 <sup>9</sup> /L), Median [IQR]	8.5 [5.8, 11.8]	8.2 [6.6, 10.7]	9.8 [5.9, 12.3]	8.1 [6.5, 10.8]	8.1 [5.2, 11.3]	0.623
Neutrophils (x10 <sup>9</sup> /L), Median [IQR]	6.4 [4.0, 9.3]	5.9 [3.8, 8.0]	7.0 [4.1, 9.8]	6.4 [4.0, 9.0]	7.2 [4.0, 11.2]	0.748
Lymphocytes (x10 <sup>9</sup> /L), Median [IQR]	1.0 [0.7, 1.6]	1.2 [0.8, 1.7]	1.1 [0.8, 1.4]	1.1 [0.9, 2.1]	0.7 [0.4, 1.1] <sup>*,‡</sup>	<b>0.009</b>
Haemoglobin (g/L), Median [IQR]	129.0 [117.8, 145.3]	126.0 [119.0, 145.0]	123.0 [113.8, 139.8]	134.5 [131.0, 146.0] <sup>‡</sup>	136.0 [107.0, 147.0]	0.122
Platelets (x10 <sup>9</sup> /L), Median [IQR]	236.5 [170.3, 296.0]	253.0 [177.0, 311.0]	243.5 [113.8, 139.8]	250.5 [207.3, 299.3]	174.0 [124.0, 250.0] <sup>*,‡</sup>	<b>0.026</b>
<b>Coagulation parameters</b>						
PT (seconds), Median [IQR]	13.2 [12.1, 14.4]	12.1 [11.2, 13.0]	13.1 [12.1, 14.4] <sup>*</sup>	13.4 [13.1, 14.2] <sup>*</sup>	14.1 [12.4, 20.7] <sup>*</sup>	<b>0.005</b>
aPTT (seconds), Median [IQR]	30.6 [28.2, 33.6]	31.0 [28.9, 32.7]	30.5 [28.3, 32.6]	32.0 [29.1, 33.7]	30.0 [28.2, 37.6]	0.775
Fibrinogen (g/L), Median [IQR]	4.8 [3.9, 6.5]	4.2 [2.8, 5.4] <sup>†</sup>	4.8 [4.4, 6.7]	6.5 [5.4, 6.6] <sup>*</sup>	4.5 [3.1, 4.9] <sup>†</sup>	<b>0.010</b>
D-dimer (ng/mL), Median [IQR]	1227.0 [687.0, 2141.5]	755.5 [431.5, 1744.0]	1315.0 [832.5, 2176.3]	*950.0 [602.0, 1728.0]	1630.0 [1117.0, 4334.0] <sup>*,‡</sup>	<b>0.017</b>
Antithrombin (%), Median [IQR]	80.0 [61.0, 100.0]	81.0 [57.5, 98.5]	80.0 [61.5, 97.5]	98.0 [80.3, 114.8] <sup>*,‡</sup>	70.0 [59.0, 87.0] <sup>†</sup>	<b>0.024</b>
<b>Pro-inflammatory markers</b>						
IL-6 (pg/ml), Median [IQR]	79.0 [40.5, 131.9]	53.2 [15.0, 83.1]	70.5 [41.9, 115.0]	166.7 [75.6, 214.7] <sup>*</sup>	107.7 [81.3, 269.8] <sup>*,‡</sup>	<b>0.002</b>
C-reactive protein (mg/L), Median [IQR]	61.0 [21.0, 153.5]	16.0 [3.5, 53.8]	52.0 [23.3, 146.3] <sup>*</sup>	145.0 [97.0, 202.5] <sup>*,‡</sup>	105.0 [71.0, 192.0] <sup>*,‡</sup>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Organ injury markers</b>						
Troponin T (ng/L), Median [IQR]	12.0 [5.0, 35.0]	8.0 [5.0, 16.0]	16.0 [6.8, 47.3] <sup>*</sup>	6.5 [5.0, 10.5] <sup>‡</sup>	35.0 [17.0, 58.0] <sup>*,‡</sup>	<b>&lt;0.001</b>
Bilirubin (µmol/L), Median [IQR]	9.0 [6.0, 14.0]	8.0 [4.5, 13.0]	8.0 [6.0, 15.0]	9.0 [6.0, 12.5]	12.0 [8.0, 16.5] <sup>*</sup>	0.142
ALT (U/L), Median [IQR]	25.5 [14.5, 45.0]	21.0 [11.5, 55.0]	19.0 [11.5, 38.0]	33.5 [29.0, 59.5] <sup>‡</sup>	28.5 [15.8, 44.3]	0.163
Creatinine (µmol/L), Median [IQR]	77.0 [63.0, 105.0]	74.5 [62.0, 82.3]	78.0 [60.8, 104.3]	80.0 [57.8, 96.0]	102.0 [71.0, 180.0] <sup>*</sup>	0.125
SpO <sub>2</sub> (%), Median [IQR]	95.0 [92.0, 97.0]	97.0 [95.0, 98.0]	94.5 [92, 96] <sup>*</sup>	94.0 [92.0, 96.5] <sup>*</sup>	92.0 [78.5, 96.0] <sup>*</sup>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Outcomes</b>						
Length of stay (days), Median [IQR]	10.0 [3.0, 20.0]	2.0 [1.0, 13.8]	10.0 [6.0, 22.0] <sup>*</sup>	17.0 [9.5, 43.8] <sup>*</sup>	–	<b>&lt;0.001</b>
Ventilator support (days), Median [IQR]	0.0 [0.0, 0.0]	0.0 [0.0, 0.0]	0.0 [0.0, 0.0]	2.0 [0.0, 9.3]	0.0 [0.0, 8.0]	<b>&lt;0.001</b>

<sup>a</sup>P value for comparisons mild vs. moderate vs. critical disease vs. non-survivors, collectively. Performed using Kruskal-Wallis test. \*Significant vs. mild disease. <sup>‡</sup>Significant vs moderate disease. <sup>†</sup>Significant vs. critical disease.

**Tableau 1.** \*Données démographiques, mesures du sang périphérique et résultats pour les groupes de gravité de la maladie dans l'infection au COVID-19.

Une analyse univariée utilisant des histones en circulation continue a démontré que l'augmentation des taux d'histones était associée à la mortalité (rapport de cotes = 1,031 (IC à 95 % = 1,013-1,049,  $P = 0,001$ ). , [3](#) , [7](#) résultats similaires ont été obtenus ( [Figure 1C](#) , OR = 4,875 (IC à 95 % = 1,879-12,649,  $P = 0,001$ ), démontrant que les patients présentant des taux élevés d'histones circulantes à l'admission

présentaient un risque de mortalité plus élevé. Une analyse multivariée ultérieure a démontré que les histones étaient indépendamment associées à la mortalité après ajustement pour l'âge, le sexe, l'origine ethnique et la comorbidité lorsque les taux d'histones étaient traités soit comme continus (rapport de cotes = 1,032 ; IC à 95 % = 1,013-1,051,  $P = 0,001$ ) ou variables catégorielles (rapport de cotes = 5,404 ; IC à 95 % = 1,852-15,770,  $P = 0,002$ ). L'analyse de la courbe ROC montre une aire sous la courbe [AUC] de 0,708 (IC à 95 % = 0,589-0,827,  $P = 0,002$ ). Une courbe de survie de Kaplan-Meier a démontré une augmentation significative de la probabilité de mortalité au cours de la période de 28 jours chez les patients avec des histones  $\geq 30$  g/mL ( [Figure 1D](#) ,  $P < 0,001$ ).



**Figure 1.** \*Des niveaux élevés d'histones circulantes lors de l'admission à l'hôpital sont associés à la gravité de la maladie et à la mortalité dans le COVID-19. Western Blots typiques (A) et quantification (B) des niveaux d'histones chez les témoins sains (n=12), légers (n=30), modérés (n=38), les maladies critiques (n=20) et les non-survivants (n =25) avec une infection au COVID-19. Les taux d'histones circulantes étaient plus élevés avec l'augmentation de la gravité de la maladie (  $P < 0,001$ ). Les niveaux d'histones étaient plus élevés chez les non-survivants par rapport aux groupes modérés (  $P = 0,023$ ), légers (  $P < 0,001$ ) et aux témoins sains normaux (  $P < 0,001$ ). Les taux d'histones étaient plus élevés dans le groupe critique par rapport aux groupes légers (  $P < 0,001$ )

et aux témoins sains normaux ( $P < 0,001$ ). Les niveaux d'histones étaient plus élevés dans le groupe modéré par rapport au groupe léger ( $P = 0,007$ ) et aux témoins sains normaux ( $P = 0,002$ ). (C) Analyse multivariée des rapports de cotes bruts et ajustés (avec des patients ajustés en fonction de l'âge, du sexe, des minorités noires et ethniques (BAME) et des comorbidités, notamment le tabagisme, l'hypertension, l'asthme/MPOC, le diabète, les cardiopathies ischémiques et les maladies rénales chroniques). Des taux d'histones circulants  $30 \text{ g/mL}$  étaient indépendamment associés à une mortalité à 28 jours. (D) Courbe de survie de Kaplan-Meier pour la probabilité de mortalité au cours de la période de 28 jours. Les patients ont été stratifiés en fonction des taux d'histones circulantes à l'admission ( $<30 \text{ } \mu\text{g/mL}$  vs.  $30 \text{ g/mL}$ ). (E) Diagramme pour proposer que les histones circulantes jouent un rôle pathologique central dans le développement du COVID-19 sévère.

	Survivors	Non-survivors	P value <sup>a</sup>	Histones <30 $\mu\text{g/mL}$	Histones $\geq 30 \text{ } \mu\text{g/mL}$	P value <sup>b</sup>
Total number (n)	88	25	–	84	29	–
<b>Demographics &amp; Comorbidities</b>						
Age (years), n.	59.0	76.0	<b>&lt;0.001</b>	63.0	66.0	0.224
Median [IQR]	[45.8, 72.3]	[66.0, 86.0]		[47.8, 76.0]	[57.0, 80.0]	
Male, No. [%]	49 [55.7]	16 [64.0]	0.458	48 [57.1]	17 [58.6]	0.890
White ethnicity, No. [%]	72 [81.8]	24 [96.0]	0.113	73 [86.9]	23 [79.3]	0.324
Smoking history, No. [%]	30 [34.1]	8 [32.0]	0.845	28 [33.3]	10 [34.5]	0.910
Hypertension, No. [%]	25 [28.4]	11 [44.0]	0.140	28 [33.3]	8 [27.6]	0.567
Asthma/COPD, No. [%]	25 [28.4]	4 [16.0]	0.301	25 [29.8]	4 [13.8]	0.138
Diabetes mellitus, No. [%]	20 [22.7]	9 [36.0]	0.180	21 [25.0]	8 [27.6]	0.783
Ischemic heart disease, No. [%]	11 [12.5]	5 [20.0]	0.343	13 [15.5]	3 [10.3]	0.758
Chronic kidney disease, No. [%]	13 [14.8]	2 [8.0]	0.515	11 [13.1]	4 [13.8]	>0.999
Histones ( $\mu\text{g/mL}$ ),	8.6	29.6	<b>0.002</b>	6.1	51.6	<b>&lt;0.001</b>
Median [IQR]	[3.1, 24.8]	[11.2, 60.0]		[2.0, 13.5]	[38.2, 72.8]	
<b>Peripheral blood cell counts</b>						
White blood cells ( $\times 10^9/L$ ),	8.7	8.1	0.387	8.0	9.8	0.084
Median [IQR]	[6.1, 11.8]	[5.2, 11.3]		[5.7, 11.0]	[6.7, 13.3]	
Neutrophils ( $\times 10^9/L$ ),	6.2	7.2	0.563	5.7	9.1	<b>0.001</b>
Median [IQR]	[4.0, 8.9]	[4.0, 11.2]		[3.6, 8.2]	[6.1, 12.2]	
Lymphocytes ( $\times 10^9/L$ ),	1.1	0.7	<b>0.001</b>	1.2	0.8	<b>0.007</b>
Median [IQR]	[0.8, 1.7]	[0.4, 1.1]		[0.8, 1.7]	[0.5, 1.1]	
Haemoglobin (g/L),	128.0	136.0	0.740	128.0	131.0	0.740
Median [IQR]	[118.0, 144.0]	[107.0, 147.0]		[118.0, 145.0]	[116.0, 147.0]	
Platelets ( $\times 10^9/L$ ),	248.0	174.0	<b>0.003</b>	237.5	215.0	0.410
Median [IQR]	[181.0, 299.0]	[124.0, 250.0]		[174.3, 295.8]	[155.8, 296.8]	
<b>Coagulation parameters</b>						
PT (seconds), Median [IQR]	13.0 [11.8, 14.1]	14.1 [12.4, 20.7]	<b>0.028</b>	12.8 [11.8, 14.0]	13.8 [13.3, 15.6]	<b>0.005</b>
aPTT (seconds), Median [IQR]	30.9 [28.4, 32.9]	30.0 [28.2, 37.6]	0.858	30.7 [28.7, 34.0]	29.5 [28.0, 32.6]	0.268
Fibrinogen (g/L), Median [IQR]	5.3 [4.1, 6.5]	4.5 [3.1, 4.9]	0.091	4.7 [3.9, 5.7]	6.6 [4.6, 7.6]	<b>0.012</b>
D-dimer (ng/mL),	1166.0	1630.0	<b>0.017</b>	1128.0	2267.0	<b>0.001</b>
Median [IQR]	[619.0, 2038.0]	[1117.0, 4334.0]		[589.0, 1844.3]	[1227.0, 5235.0]	
Antithrombin (%),	83.0	69.5	<b>0.048</b>	82.0	77.0	0.971
Median [IQR]	[62.5, 102.5]	[55.8, 81]		[59.0, 100.4]	[69.0, 99.0]	
<b>Pro-inflammatory markers</b>						
IL-6 (pg/mL),	73.9	107.7	<b>0.021</b>	71.8	226.2	<b>&lt;0.001</b>
Median [IQR]	[36.6, 125.4]	[81.3, 269.8]		[35.2, 111.4]	[90.6, 518.9]	
C-reactive protein (mg/L),	50.0	105.0	<b>0.013</b>	48.0	186.0	<b>&lt;0.001</b>
Median [IQR]	[15.3, 149.0]	[71.0, 192.0]		[10.0, 107.5]	[108.5, 247.5]	
<b>Organ injury markers</b>						
Troponin T (ng/L), Median [IQR]	5.0 [10.0, 23.0]	35.0 [17.0, 58.0]	<b>&lt;0.001</b>	10.0 [5.0, 24.0]	25.0 [9.8, 57.3]	<b>0.011</b>
Bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ ), Median [IQR]	8.0 [5.0, 13.0]	12.0 [8.0, 16.5]	<b>0.041</b>	8.0 [5.0, 13.0]	11.0 [85.0, 16.3]	<b>0.016</b>
ALT (U/L), Median [IQR]	25.0 [12.8, 45.0]	28.5 [15.8, 44.3]	0.727	20.5 [12.8, 38.3]	36.5 [25.5, 55.3]	0.062
Creatinine ( $\mu\text{mol/L}$ ), Median [IQR]	76.0 [61.0, 96.8]	102.0 [71.0, 180.0]	<b>0.024</b>	76.0 [62.5, 99.3]	96.0 [65.0, 154.0]	0.127
SpO <sub>2</sub> (%), Median [IQR]	95.0 [93.0, 97.0]	92.0 [78.5, 96.0]	<b>0.005</b>	95.0 [93.5, 97.0]	92.0 [85.8, 94.0]	<b>0.001</b>
<b>Outcomes</b>						
Length of stay (days),	10.0	–	–	8.0	28.0	<b>&lt;0.001</b>
Median [IQR]	[3.0, 20.0]			[2.5, 15.5]	[13.0, 41.5]	
Ventilator support (days), Median [IQR]	0.0 [0.0, 0.0]	0.0 [0.0, 0.0]	0.347	0.0 [0.0, 0.0]	0.0 [0.0, 8.0]	<b>&lt;0.001</b>
Mortality at 28 days, No. [%]	0 [0]	25 [100]	<b>&lt;0.001</b>	12 [14.3]	13 [44.8]	<b>0.001</b>

<sup>a</sup>P value for survivors vs. non-survivors. <sup>b</sup>P value for toxic histone levels vs. non-toxic. Performed using the Mann-Whitney U test for continuous variables and Fisher Exact/ $\chi^2$  tests for categorical variables.

**Tableau 2.** \*Démographie, mesures du sang périphérique et résultats des patients COVID-19.

La coagulopathie est devenue une caractéristique clé du COVID-19 sévère et a été liée à une mortalité accrue. [13](#) Il a été documenté que les histones extracellulaires, libérées après la mort cellulaire, sont des moteurs de la coagulation en activant les plaquettes [7](#) générant de la thrombine [2](#) et en endommageant les cellules endothéliales [8](#) pour induire une coagulopathie dans les maladies graves. [3](#) Il s'agit du premier rapport à démontrer des niveaux élevés d'histones circulantes dans l'infection par le SRAS-CoV-2, avec des niveaux fortement associés à la coagulopathie. Ceci suggère leur implication dans la thrombose dans les cas graves. [14](#)

Des niveaux élevés d'histones circulantes reflètent l'étendue de la mort cellulaire, telle que la lymphopénie ou la NETose, [15](#) qui peuvent être une source majeure d'histones circulantes dans COVID-19. La libération d'histones après la mort cellulaire déclenche la libération d'IL-6 pour induire une réponse en phase aiguë. [8](#) Nous avons constaté que les niveaux d'histones circulantes étaient significativement corrélés avec l'IL-6 et les niveaux de protéines de phase aiguë, y compris le fibrinogène et la CRP, indiquant une réponse de phase aiguë induite par les histones chez les patients atteints de COVID-19.

Les histones extracellulaires perturbent les membranes cellulaires par liaison aux phospholipides pour induire des effets cytotoxiques sur les cellules, y compris les cellules endothéliales [8](#) et les cardiomyocytes. [12](#) Cette étude démontre les histones circulantes associées aux lésions cardiaques, qui sont fréquemment observées dans les cas graves de COVID-19 et associées à de mauvais résultats. [5](#) Par conséquent, les propriétés cytotoxiques et procoagulantes des histones circulantes peuvent être un mécanisme moléculaire sous-jacent contribuant à la gravité de la maladie et à de mauvais résultats ( [Figure 1E](#) ).

En conclusion, il s'agit du premier rapport à quantifier des niveaux élevés d'histones circulantes dans les infections virales et à démontrer que les histones extracellulaires jouent un rôle central dans le développement de l'immuno-thrombose et des maladies graves dans le COVID-19.

## Notes de bas de page

- Reçu le 5 février 2021
- Accepté le 1er avril 2021

## Correspondance

\*RJS, STA et JA ont contribué à parts égales en tant que co-premiers auteurs.

# MGS et C-HT ont contribué à parts égales en tant qu'auteurs principaux.

CHENG-HOCK TOH - [toh@liverpool.ac.uk](mailto:toh@liverpool.ac.uk)

*Divulgations : tous les auteurs ont rempli et soumis le formulaire ICMJE pour la divulgation de conflits d'intérêts potentiels et aucun n'a été signalé.*

*Contributions : RJS, JT, TD, CD et STA ont collecté et interprété les données cliniques et effectué l'analyse des données. RJS, STA et SL ont effectué une analyse statistique. JA, STA, RJS et MD ont mesuré les niveaux d'histones circulantes. RJS, STA, TD, GW et CHT ont écrit, édité et révisé le manuscrit et les figures. PJMO, JKB, LT et MS ont révisé et révisé le manuscrit. STA, GW et CHT ont conçu et supervisé les travaux. STA et CHT ont eu un accès complet à toutes les données de l'étude et assument la responsabilité de l'intégrité des données et de l'exactitude de l'analyse des données. STA, GW, CHT, PJMO, JKB et MS ont obtenu un financement pour ce travail.*

*Partage de données : ce travail utilise les données fournies par les patients et collectées par le NHS dans le cadre de leurs soins et de leur soutien #DataSavesLives. Les données CO-CIN ont été rassemblées par les enquêteurs de l'ISARIC4C. ISARIC4C accepte les demandes d'accès aux données et au matériel par l'intermédiaire de notre comité indépendant d'accès aux données et au matériel (<https://isaric4c.net>).*

## Le financement

this work was funded by University of Liverpool COVID-19 strategic funding, the British Heart Foundation [PG/16/65/32313], Bayer AG (Germany) and the Royal Liverpool & Broadgreen University Hospitals NHS Trust. It was funded in whole, or in part, by the Wellcome Trust [205228/Z/16/Z]. This research is supported by grants from: the National Institute for Health Research (NIHR) [award CO-CIN-01]; the Medical Research Council [grant MC\_PC\_19059] and by the NIHR Health Protection Research Unit (HPRU) in Emerging and Zoonotic Infections at University of Liverpool, in partnership with Public Health England (PHE), in collaboration with the Liverpool School of Tropical Medicine and the University of Oxford [award 200907]; NIHR HPRU in Respiratory Infections at Imperial College London with Public



Health England (PHE) [award 200927]; the Wellcome Trust and Department for International Development [215091/Z/18/Z]; the Bill and Melinda Gates Foundation [OPP1209135]; the Liverpool Experimental Cancer Medicine Centre (Grant Reference: C18616/A25153); the NIHR Biomedical Research Centre at Imperial College London [IS-BRC- 1215-20013]; the EU Platform for European Preparedness Against (Re-) emerging Epidemics (PREPARE) [FP7 project 602525] and NIHR Clinical Research Network for providing infrastructure support for this research. PJMO is supported by an NIHR Senior Investigator Award [award 201385]. The views expressed are those of the authors and not necessarily those of the DHSC, DID, NIHR, MRC, Wellcome Trust or PHE. The sponsors had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

## Acknowledgments

This work uses data provided by patients and collected by the NHS as part of their care and support #DataSavesLives. We are extremely grateful to the 2,648 frontline NHS clinical and research staff and volunteer medical students, who collected this data in challenging circumstances; and the generosity of the participants and their families for their individual contributions in these difficult times. We also acknowledge the support of Jeremy J Farrar and Nahoko Shindo.

## References

1. Huang C, Wang Y, Li X. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5) | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
2. Abrams ST, Su D, Sahraoui Y. Assembly of alternative prothrombinase by extracellular histones initiates and disseminates intravascular coagulation. *Blood*. 2021; 137(1):103-114. <https://doi.org/10.1182/blood.2019002973> | [Google Scholar](#)
3. Cheng Z, Abrams ST, Alhamdi Y. Circulating histones are major mediators of multiple organ dysfunction syndrome in acute critical illnesses. *Crit Care Med*. 2019; 47(8):e677-e684. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003839> | [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
4. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. 2020. [Publisher Full Text](#) | [Google Scholar](#)
5. Zhou F, Yu T, Du R. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10229):1054-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3) | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
6. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19. *Ann Intern Med*. 2020; 173(4):268-277. <https://doi.org/10.7326/L20-1206> | [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
7. Alhamdi Y, Abrams ST, Lane S, Wang G, Toh CH. Histone-associated thrombocytopenia in patients who are critically ill. *JAMA*. 2016; 315(8):817-819. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0136> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
8. Abrams ST, Zhang N, Manson J. Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013; 187(2):160-169. <https://doi.org/10.1164/rccm.201206-1037OC> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
9. Abrams ST, Zhang N, Dart C. Human CRP Defends against the toxicity of circulating histones. *J Immunol*. 2013; 191(5):2495-2502. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203181> | [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
10. Xu J, Zhang X, Pelayo R. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*. 2009; 15(11):1318-1321. <https://doi.org/10.1038/nm.2053> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
11. Docherty AB, Harrison EM, Green CA. Features of 20,133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ*. 2020; 369:m1985. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1985> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
12. Alhamdi Y, Abrams ST, Cheng Z. Circulating histones are major mediators of cardiac injury in patients with sepsis. *Crit Care Med*. 2015; 43(10):2094-2103. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000001162> | [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
13. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(4):844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
14. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020; 191:145-147. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.013> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)
15. Middleton EA, He XY, Denorme F. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020; 136(10):1169-1179. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007008> | [PubMed](#) | [PubMed Central](#) | [Google Scholar](#)

## Navigate

[Home](#)  
[Current issue](#)  
[Early view](#)  
[Archive](#)  
[About Haematologica](#)  
[Editorial Team](#)  
[Our policies](#)

## For Authors

[Author Guidelines](#)  
[Submit Manuscript](#)  
[Track Manuscript](#)

## For Reviewers

[Reviewer Guidelines](#)  
[Access Your Profile](#)  
[Access Your Tasks](#)

## For Advertisers

[Informations For Advertising](#)

## Education

[Review Articles](#)  
[Guidelines Articles](#)

## Privacy

[Cookie Policy](#)  
[Newsletter Privacy Policy](#)  
[Privacy Policy](#)

## More

[Rights & Permissions](#)  
[Web design](#)  
[Development](#)