

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616.1/9:616-005.6

Осиков М.В.<sup>1,2</sup>, Антонов В.Н.<sup>3,4</sup>, Зотов С.О.<sup>1,4</sup>, Игнатова Г.Л.<sup>3,4</sup>

## Роль сахарного диабета 2 типа в эскалации дисфункции тромбоцитов у больных с covid-19-ассоциированным поражением легких

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454048, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», 454048, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 70, Челябинск, Россия;

<sup>3</sup>ИДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 454048, Челябинск, Россия, ул. Воровского д. 64;

<sup>4</sup>ГБУЗ «Областная клиническая больница № 3», 454136, Челябинск, Россия, просп. Победы, д. 287

Изменения в функциональной активности тромбоцитов у больных с COVID-19 и сахарным диабетом 2 типа широкоизвестны, но механизм дисфункции тромбоцитов при сочетании этих заболеваний не исследован. **Цель работы** – изучение функциональной активности тромбоцитов и содержания продуктов окислительной деструкции липидов и белков в тромбоцитах у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких высокой степени тяжести при наличии сахарного диабета 2 типа.

**Методика.** В исследовании принимали участие больные COVID-19 ( $n = 55$ ) в возрасте от 51 до 75 лет с поражением легочной ткани более 50%. В зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета 2 типа больные разделены на 2 группы. Контрольная группа – практически здоровые лица ( $n = 24$ ), сопоставимые по полу и возрасту с больными COVID-19. У всех пациентов исследовали: количество тромбоцитов в крови; агрегацию тромбоцитов, индуцированную АДФ, коллагеном, адреналином и ристомидином; содержание в тромбоцитах продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах экстракта; продукты окислительной модификации белков (ОМБ) в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции.

**Результаты.** У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких тяжелой степени тяжести количество тромбоцитов в крови значимо не изменяется, но ускоряется агрегация тромбоцитов, индуцированная коллагеном и ристомидином; в обогащенной тромбоцитами плазме увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ, уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ в тромбоцитах. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа значимо снижается количество тромбоцитов в крови, ускоряется агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, коллагеном, адреналином и ристомидином; происходит значимый рост уровня ранних и поздних продуктов ОМБ в спонтанном и металл-индуцированном режиме детекции в тромбоцитах, увеличивается уровень первичных, вторичных и конечных маркеров ПОЛ в тромбоцитах в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта. Выявлено, что у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких, в том числе при сочетании с СД 2 типа, агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, коллагеном, адреналином и ристомидином ускоряется по мере увеличения содержания в них продуктов окислительной деструкции липидов и белков. Наличие СД 2 типа у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в 2 раза увеличивает количество прямых связей умеренной и заметной силы между агрегацией тромбоцитов и содержанием в них продуктов ПОЛ и ОМБ.

**Ключевые слова:** COVID-19; сахарный диабет 2 типа; тромбоциты; агрегация; редокс-статус; окислительный стресс

**Для цитирования:** Осиков М.В., Антонов В.Н., Зотов С.О., Игнатова Г.Л. Роль сахарного диабета 2 типа в эскалации дисфункции тромбоцитов у больных с COVID-19 ассоциированным поражением легких. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(4): 27-35.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.27-35

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, редакция текста – Осиков М.В.; анализ полученных данных, диагностические исследования, редакция текста – Антонов В.Н.; сбор и обработка материалов, написание текста, обзор литературы – Зотов С.О.; анализ полученных данных, написание текста – Игнатова Г.Л. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

**Для корреспонденции:** Зотов Семён Олегович, e-mail: semenz2007@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.05.2022

Принята к печати 27.10.2022

Опубликована 15.12.2022

Osikov M.V.<sup>1,2</sup>, Antonov V.N.<sup>3,4</sup>, Zotov S.O.<sup>1,4</sup>, Ignatova G.L.<sup>3,4</sup>

## The role of type 2 diabetes in the escalation of platelet dysfunction in patients with covid-19-associated lung damage

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, South-Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation;

<sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Vorovskogo str., 81, Chelyabinsk, 454021, Russian Federation;

<sup>3</sup>Department of therapy IDPO, South-Ural State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation, Vorovskogo str., 64, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation;

<sup>4</sup>Chelyabinsk Regional Clinical Hospital № 3, Pobedy str., 271, Chelyabinsk, 454021, Russian Federation

Changes in the functional activity of platelets in patients with COVID-19 and type 2 diabetes mellitus are widely known, but the mechanism of platelet dysfunction in the combination of these diseases has not been studied. The **aim of the work** is to investigate the effect of the presence of type 2 diabetes mellitus on the aggregation and content of products of oxidative degradation of lipids and proteins in platelets in patients with severe COVID-19-associated lung disease.

**Methods.** The study involved patients with COVID-19 ( $n = 55$ ) aged 51 to 75 years with more than 50% lung tissue damage. Depending on the presence or absence of type 2 diabetes mellitus, patients were divided into 2 groups. The control group consisted of practically healthy people ( $n = 24$ ), matched by sex and age with patients with COVID-19. In all individuals, the number of platelets in the blood, platelet aggregation induced by ADP, collagen, adrenaline and ristomycin, the content of lipid peroxidation products in the hepatic and isopropanol phases of the extract, and protein oxidative modification products (PMP) products in spontaneous and metal-induced detection modes were studied. The data obtained were analyzed using the IBM SPSS Statistics v. 23.

**Results.** In patients with severe COVID-19-associated lung disease, the number of platelets in the blood does not change significantly, but platelet aggregation induced by collagen and ristomycin is accelerated; in platelet-rich plasma, the total content of OMP products, the level of primary and secondary LPO products in platelets increases. In patients with COVID-19-associated lung injury in combination with type 2 diabetes, the number of platelets in the blood is significantly reduced, platelet aggregation is accelerated, induced by ADP, collagen, adrenaline, and ristomycin; there is a significant increase in the level of early and late PMP products in the spontaneous and metal-induced detection mode in platelets, the level of primary, secondary and final LPO markers in platelets increases in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract. It was found that in patients with COVID-19-associated lung injury, including those associated with type 2 diabetes, platelet aggregation induced by ADP, collagen, adrenaline, and ristomycin accelerates as the content of oxidative degradation products of lipids and proteins in them increases. The presence of type 2 diabetes in patients with COVID-19-associated lung damage doubles the number of direct links of moderate and noticeable strength between platelet aggregation and the content of LPO and PMP products in them.

**Keywords:** COVID-19; type 2 diabetes mellitus; platelets; aggregation; redox status; oxidative stress

**For citation:** Osikov M.V., Antonov V.N., Zotov S.O., Ignatova G.L. The role of type 2 diabetes in the escalation of platelet dysfunction in patients with covid-19-associated lung damage. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy)*. 2022; 66(4): 27-35.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.27-35

**Author's contribution:** concept and design of the study, text editor – Osikov M.V.; analysis of the obtained data, diagnostic studies, text editing – Antonov V.N.; collection and processing of materials, writing the text, literature review – Zotov S.O.; analysis of the obtained data, writing the text – Ignatova G.L. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** **Semyon O. Zotov**, Senior Laboratory Assistant, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, e-mail: semenz2007@yandex.ru

### Information about the authors:

Osikov M.V., <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>

Antonov V.N., <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>

Zotov S.O., <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>

Ignatova G.L., <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The study had no sponsorship.

Received 24.05.2022

Accepted 27.10.2022

Published 15.12.2022

## Введение

Снижение уровня тромбоцитов в крови выявляется приблизительно у 42% пациентов с COVID-19 (частота варьирует в зависимости от тяжести заболевания) и обычно имеет легкую форму (выше  $150 \times 10^9/\text{л}$ ). Легкая тромбоцитопения выявляется в 58–95% тяжелых случаев COVID-19 [1]. Тяжелая тромбоцитопения редко встречается у пациентов с COVID-19, например, в связи с иммунным тромбоцитопеническим пурпуроподобным состоянием [2]. Снижение уровня тромбоцитов в крови при поступлении у пациентов с COVID-19 связано с 4-х-кратным увеличением риска летального исхода, пациенты с тромбоцитопенией (медиана  $105 \times 10^9/\text{л}$ ) чаще были пожилого возраста, мужчины, с высоким баллом по шкале APACHE II, низким абсолютным количеством нейтрофилов и лимфоцитов в крови, высоким уровнем С-реактивного белка и низким соотношением  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  [3]. При COVID-19 в крови увеличивается содержание молодых форм тромбоцитов (сетчатые тромбоциты) и снижается количество зрелых форм. Молодые тромбоциты проявляют высокий уровень активации в ответ на агонисты и таким образом способствуют образованию агрегатов [4]. Показана независимая связь между количеством тромбоцитов в крови, тяжестью заболевания и риском летального исхода госпитализированных пациентов с COVID-19 [5].

В единичных исследованиях сообщалось, что у пациентов с COVID-19 агрегация тромбоцитов ускоряется [6, 7]. В исследовании В. Манне и соавт. показано, что агрегация тромбоцитов ускоряется в ответ на низкие дозы агонистов (АДФ, тромбин и коллаген) у пациентов с COVID-19, потенцирование агрегации более выражено у пациентов с высокой степенью тяжести болезни [8].

Среди пациентов, госпитализированных с COVID-19, значительное число страдает сахарным диабетом (СД) 2 типа, для которого характерны изменения со стороны системы гемостаза с преимущественным риском тромботических осложнений. Важнейшими причинами изменений гемостаза при СД являются нарушения в сосудисто-тромбоцитарном звене: гиперагрегация тромбоцитов (за счет гипергликемии и/или инсулинорезистентности, ожирения, увеличения числа юных форм, повреждения эндотелия и снижения его антиагрегационных свойств) [9]. Показано, что тромбоциты при СД имеют повышенный уровень экспрессии маркеров активации на своих мембранах [9]. В связи с этим, СД 2 типа может рассматриваться как отдельное тромбофилическое состоя-

ние с вероятностью тромбоэмболических осложнений. Поскольку COVID-19 является новым заболеванием, знания о нём все еще неполны и постоянно углубляются. Многие исследования показали, что у пациентов с COVID-19 в сочетании с СД 2 типа развивается тяжелое течение заболевания и отмечается повышенная смертность [11].

В ряде исследований показано, что производство избыточного количества активных радикалов и эскалация окислительного стресса оказывают влияние на патогенез респираторных вирусных инфекций, таких как SARS-CoV, аналогичные процессы может вызывать SARS-CoV-2 [12]. Окислительный стресс может быть ключевым фактором в патогенезе COVID-19 из-за его важной роли в воспалении и активации тромбоцитов [11]. Сочетание факторов гиперреактивности тромбоцитов при СД 2 типа с изменением редокс-статуса тромбоцитов при COVID-19 может вызывать осложнения, в том числе тромботические, у лиц с подобной сочетанной патологией.

Вышеизложенное определяет актуальность проблемы сочетания COVID-19-ассоциированным поражением легких и СД 2 типа, указывает на необходимость изучения патофизиологических особенностей клеточного звена системы гемостаза при данной сочетанной патологии и совершенствования на основе этих знаний диагностических, профилактических мероприятий, а также поиска рациональных путей предотвращения тромботических осложнений.

Цель работы – изучение функциональной активности тромбоцитов и содержания продуктов окислительной деструкции липидов и белков в тромбоцитах у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких высокой степени тяжести при наличии сахарного диабета 2 типа.

## Методика

В исследовании приняли участие 55 больных COVID-19, госпитализированных в ГАУЗ ОКБ №3 г. Челябинск (31 женщина и 24 мужчины), в возрасте от 51 до 75 лет, не принимавших препараты, влияющих на функцию тромбоцитов, перед госпитализацией. Всеми пациентами было подписано информированное согласие. Все исследования проводились в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 №266. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Южно-Уральского Государственного Медицинского Университета Минздрава России (протокол №4 от 24.05.2021). У всех пациентов методом мультиспиральной компьютерной томо-

графии грудной клетки (аппарат «Siemens SOMATOM Definition AS 64») выявлено двустороннее вирусное поражение легких объемом более 50% (высокая степень тяжести) согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Диагноз COVID-19 подтверждался обнаружением на слизистых оболочках зева и носовой полости РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (РеалБест РНК SARS-CoV-2, АО Вектор Бест). В контрольную группу вошли 24 клинически здоровых добровольца (группа 1), сопоставимых по полу и возрасту с больными COVID-19. В зависимости от наличия СД 2 типа больные с COVID-19-ассоциированным поражением легких были разделены на группы: группа 2 без СД 2 типа ( $n=34$ ) и группа 3 с СД 2 типа ( $n=21$ ). Критериями включения в группу 3 было наличие клинического диагноза СД 2 типа со стажем заболевания 1-5 лет (с целью исключения осложнений диабета – ангиопатий). Критериями исключения являлись наличие ранее выявленных онкологических заболеваний, хронических заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной систем и органов желудочно-кишечного тракта, крайне тяжелое течение сочетанной патологии, требующее госпитализации пациента в ОРИТ, наличие у пациента артериальной гипертензии 2-й степени и выше, индекс массы тела более  $30 \text{ кг/м}^2$ , анемия (гемоглобин менее  $119 \text{ г/л}$ ).

Забор крови проводился в 1-е сутки поступления больного в стационар. Стандартная тромбопрофилактика нефракционированным гепарином начиналась после забора крови на исследование. Помимо антикоагулянтной терапии больные получали стандартную терапию фавибирином и глюкокортикоидами, антибактериальную терапию.

Количества тромбоцитов в крови подсчитывали по методу Фонио. Агрегацию тромбоцитов оценивали на лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «АЛАТ-2» («БИОЛА», Россия), в качестве индукторов агрегации использовали АДФ ( $2,5 \text{ ммоль/мл}$ ), коллаген ( $3,3 \text{ мкг/мл}$ ), адреналин ( $5 \text{ мкг/мл}$ ), ристомицин ( $7,5 \text{ мг/мл}$ ) (ООО «Технология Стандарт», Россия), учитывали количество единиц среднего размера агрегатов в минуту (ед/мин), за единичный радиус принимался средний радиус тромбоцитов до начала агрегации.

Окислительную модификацию белков (ОМБ) и перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивали в обогащенной тромбоцитами плазме с использованием спектрофотометра «СФ56» («ЛОМО – Спектр», Санкт – Петербург, Россия) [13]. ОМБ исследовали по содержанию альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ)

и кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ). Содержание липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта рассчитывали в виде индексов окисления (е.и.о.), которые отражают относительный уровень продуктов ПОЛ: E232/E220 – относительное содержание диеновых конъюгатов (ДК, первичные продукты), E278/220 – кетодиены и сопряженные триены (КДиСТ, вторичные продукты), E 400/E220 – Шиффовы основания (ШО, конечные продукты).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием IBM SPSS Statistics v. 23 («SPSS: An IBM Company»; США), Характеристика выборок представлена в формате «Me ( $Q_{25} - Q_{75}$ )», где Me – медиана,  $Q_{25}$ ,  $Q_{75}$  – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Для оценки распределения непрерывных переменных использовался тест Шапиро-Уилка. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). Сила связи оценивалась по шкале Чеддока. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Отличия считали статистически значимыми при уровне  $p \leq 0,01$ .

## Результаты

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких количество тромбоцитов в крови значимо не менялось (табл. 1). При оценке агрегации тромбоцитов у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких выявлено ускорение индуцированной коллагеном и ристомицином агрегации тромбоцитов на 24% и 14% соответственно по медиане относительно значений в контрольной группе. Агрегация тромбоцитов с АДФ и адреналином в этой группе значимо не меняется.

У больных с COVID-19-ассоциированным повреждением легких в спонтанном режиме детекции суммарное содержание продуктов ОМБ в обогащенной тромбоцитами плазме больше по медиане на 15%, при этом суммарное содержание АДНФГ выросло на 21% по медиане относительно контроля, а суммарное содержание КДНФГ значимо не изменялось (табл. 2). В металл-зависимом режиме суммарное содержание продуктов ОМБ в этой группе по медиане выросло на 15%, суммарное содержание АДНФГ – на 12% и КДНФГ – на 23% от значений группы контроля. В гептановой фазе липидного экстракта тромбоцитов уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ вырос по медиане на 22% и 60% соответственно по сравнению со значениями группы контроля. В изо-

пропанольной фазе экстракта значимый рост первичных и вторичных продуктов ПОЛ – 24% и 27% соответственно. Уровень конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах значимо не менялся.

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа выявлено статистически значимое снижение количества тромбоцитов в крови на 19% по медиане. Значимым было ускорение агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, коллагеном, адреналином и ристомицином – на 134%, 317%, 257% и 143% соответственно по медиане при сравнении с контролем (табл. 1). В спонтанном режиме детекции суммарное содержание продуктов ОМБ в обогащенной тромбоцитами плазме больше по медиане на 81% по сравнению с группой контроля (табл. 2). Суммарное содержание АДНФГ выросло на 89%, суммарное содержание КДНФГ – на 93% по медиане от значений группы контроля. В металл-зависимом режиме детекции суммарное содержание продуктов ОМБ по медиане выросло на 35%, суммарное содержание АДНФГ – на 32%, суммарное содержание КДНФГ – на 53% относительно контроля. В гептановой фазе липидного экстракта обогащенной тромбоцитами плазмы уровень первичных продуктов ПОЛ значимо увеличивается по медиане на 58%, вторичных – на 140%, конечных – на 100% по сравнению со значениями группы 1. В изопропанольной фазе экстракта значимый рост первичных и вторичных продуктов ПОЛ составил 55% и 47% соответственно. Уровень конечных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе значимо не изменялся.

В группе больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа относительно группы больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких без диабета значимо снижается количество тромбоцитов в крови – на 15%, ускоряется индуцированная АДФ (на 123%), коллагеном (на 236%), адреналином (на 213%) и ристомицином (на 105%) агрегация тромбоцитов (табл. 1). Кроме этого, отмечается значимый рост продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции – на 58%, рост уровня АДНФГ и КДНФГ составляет 56% и 86% соответственно, в металл катализируемом режиме детекции рост уровня аналогичных продуктов в обогащенной тромбоцитами плазме составил 20%, 18% и 25% соответственно. В гептановой фазе липидного экстракта в группе 3 относительно группы 2 выросло содержание первичных (на 30%), вторичных (на 50%) и третичных (на 71%) продуктов ПОЛ, в изопропанольной фазе – вторичных продуктов ПОЛ (на 16%) (табл. 2).

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких выявлена прямая связь между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ и уровнем вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе умеренной силы, сильная связь с общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме детекции (табл. 3). Связь умеренной силы обнаружена между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, с первичными продуктами ПОЛ в гептановой фазе и с общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме. Прямая связь умеренной силы обнаружена между скоростью

Таблица 1/ Table 1

**Количество в крови и агрегация тромбоцитов при COVID-19-ассоциированном поражении легких в зависимости от наличия СД 2 типа (Ме (Q25; Q75))**

**Blood count and platelet aggregation in COVID-19-associated lung injury depending on the presence of type 2 diabetes (Me (Q25; Q75))**

Показатели Indicators	Группа 1 / Group 1 (n=24) Control	Группа 2/ Group 2 (n=34)	Группа 3 / Group 3 (n=21)
Тромбоциты, ·10 <sup>9</sup> /л Platelets, ·10 <sup>9</sup> /l	324 (202;428)	311 (196; 425)	263 (166; 376)*#
АДФ-индуцированная агрегация, ед/мин ADP-induced aggregation, units/min	20,32 (11,46; 28,40)	21,34 (12,21; 26,80)	47,61 (34,22; 52,55)*#
Коллаген-индуцированная агрегация, ед/мин Collagen-induced aggregation, units/min	10,86 (5,38; 14,21)	13,50 (7,74;22,60)*	45,31 (39,72; 56,12)*#
Адреналин-индуцированная агрегация, ед/мин Adrenaline-induced aggregation, units/min	6,21 (1,88; 9,36)	7,10 (2,16; 11,30)	22,20 (12,91; 40,06)*#
Ристомицин-индуцированная агрегация, ед/мин Ristomycin-induced aggregation, units/minute	31, 09 (24,41; 39,12)	35, 31 (28,74; 41,17)*	72,52 (44,58; 85,19)*#

агрегации тромбоцитов, индуцированной адреналином с общим содержанием продуктов ОМБ в спонтанном режиме. Прямая связь средней силы ристомицин-индуцированной агрегации выявлена с первичными продуктами ПОЛ в гептановой фазе, вторичными продуктами ПОЛ – в изопропанольной фазе, а также с общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме.

У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа прямая связь умеренной силы обнаружена между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, и уровнем первичных и вторичных продуктов ПОЛ в гептановой фазе липидного экстракта, вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме детекции. Выявлена прямая связь коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов с первичными и вторичными продуктами ПОЛ в гептановой фазе, вторичными продуктами ПОЛ – в изопропанольной фазе, продуктами ОМБ в спонтанном режиме детекции. Прямая связь

средней силы адреналин-индуцированной агрегации выявлена с вторичными продуктами ПОЛ в гептановой фазе, с общим содержанием продуктов ОМБ в спонтанном и металл-индуцированном режимах; умеренной силы – с первичными продуктами ПОЛ в изопропанольной фазе. Связь ристомицин-индуцированной агрегации средней силы прямого характера обнаружена с первичными, вторичными и конечными продуктами ПОЛ в гептановой фазе, а также общим уровнем продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции (табл. 3).

Следует отметить разное количество значимых связей между скоростью агрегации тромбоцитов и показателями ПОЛ и ОМБ в группах 2 и 3. Так, в группе 2 с адреналин-индуцированной агрегацией выявлена 1 связь, с коллаген- и АДФ-индуцированной агрегацией по 2 связи, с ристомицин-индуцированной агрегацией 3 связи. В группе 3 выявлено по 4 связи с АДФ-, коллаген- и адреналин-индуцированной агрегацией, и 5 - с ристомицин-индуцированной агрегацией. Таким образом, наибольшее количество связей обнаружено в группе 3 – 17 связей против 8 в груп-

Таблица 2/Table 2

**Показатели ОМБ и ПОЛ в обогащенной тромбоцитами плазме при COVID-19-ассоциированном поражении легких в зависимости от наличия СД 2 типа (Me (Q25; Q75))**

**Indicators of oxidative modification of proteins and lipid peroxidation in platelet-rich plasma in COVID-19-associated lung injury depending on the presence of type 2 diabetes (Me (Q25; Q75))**

Показатели Indicators	Группа 1 Group 1 Контроль Control (n=24)	Группа 2 Group 2 (n=34)	Группа 3 Group 3 (n=21)	
Продукты ОМБ в спонтанном режиме детекции PMP products in spontaneous detection mode	S, у.е./мг белка	29,92 (25,11; 39,67)	34,33 (31,55; 37,41)*	54,17 (43,28;66,71)*#
	S АДНФГ, у.е./мг белка	27,37 (25,17; 37,43)	33,21 (29,86; 36,49)*	51,82 (39,11;60,08)*#
	S КДНФГ, у.е./мг белка	1,05 (0,95; 1,14)	1,09 (1,02; 1,17)	2,03 (1,69; 2,73)*#
Продукты ОМБ в металл-катализируемом режиме детекции PMP products in metal-catalyzed detection mode	S, у.е./мг белка	63,2 (60,81; 66,51)	71,31 (58,21; 79,73)*	84,72 (75,16; 96,13)*
	S АДНФГ, у.е./мг белка	54,09 (52,21; 56,40)	61,06 (55,09;74,33)*	72,29 (63,70; 82,43)*#
	S КДНФГ, у.е./мг белка	8,3 (8,12; 9,06)	10,17 (7,29; 12,87)*	12,72 (9,57; 14,78)*#
Продукты ПОЛ POL products	ДК (г), е.и.о.	0,55 (0,49; 0,58)	0,67 (0,59; 0,73)*	0,87 (0,65; 0,95) *#
	КДиСТ (г), е.и.о.	0,05 (0,04; 0,08)	0,08 (0,06; 0,10)*	0,12 (0,08; 0,15)*#
	ШО (г), е.и.о.	0,06 (0,04; 0,08)	0,07 (0,05; 0,09)	0,12 (0,10; 0,13)*#
	ДК (и), е.и.о.	0,51 (0,42; 0,71)	0,63 (0,54; 0,75)*	0,79 (0,63; 0,84)*
	КДиСТ (и), е.и.о.	0,30 (0,22; 0,39)	0,38(0,33; 0,42)*	0,44(0,38; 0,49)*#
	ШО (и), е.и.о.	0,03 (0,03; 0,04)	0,04(0,03; 0,04)	0,04 (0,03; 0,04)

**Примечание.** S – суммарное содержание; г – гептановая фаза экстракта; и – изопропанольная фаза экстракта; \* - значимые (p < 0,01) различия с группой 1; # – с группой 2.

**Note.** S is the total content; г – heptane phase of the extract; и – isopropanol phase of the extract; \* – significant (p < 0.01) differences with group 1; # – with group 2; PMP – protein oxidative modification products.

пе 2, среди индукторов агрегации максимальное количество связей даёт ристомицин-индуцированная агрегация (8 связей).

### Обсуждение

Вирусная инфекция вызывает снижение уровня тромбоцитов разными механизмами. Развитие тромбоцитопении на ранних стадиях COVID-19 обычно обусловлено усиленным потреблением и разрушением тромбоцитов, однако на поздних стадиях заболевания наблюдается уменьшение их продукции [14]. Тромбоциты при COVID-19 могут активироваться комплексами антиген-антитело, повреждением эндотелия и воспалительными медиаторами, кроме того, активированные тромбоциты легче выводятся из кровотока системой мононуклеарных фагоцитов. Возбудитель COVID-19 также может обладать способностью взаимодействовать с мегакариоцитами и напрямую ингибировать тромбоцитопоэз [11].

Тромбоциты пациентов с диабетом демонстрируют более сильный ответ на классические агонисты и более заметную мембранную экспрессию адгезивных молекул, таких как тромбоспондин, Р-селектин, GPIIb-

IIIa, GPVI и CD40L [15]. Механизмы гиперактивности тромбоцитов при диабете разнообразны. В исследованиях Buch et al. и Nekimsoy et al. показано, что уровень тромбоцитов в крови у пациентов с СД 2 типа ниже, чем у здоровых людей [16, 17]. Гипергликемия, связанная с СД 2 типа, влияет на экспрессию ключевых рецепторов и активность ферментов тромбоцитов. Уровни экспрессии рецепторов простациклина снижены при СД 2 типа, что усиливает агрегацию тромбоцитов [18]. Вместе с этим сообщалось, что активность P2Y12, ключевого рецептора вторичного агониста аденозиндифосфата, значительно повышена в тромбоцитах больных СД 2 типа [19]. Повышение экспрессии P2Y12 поддерживается активацией зависимого от окислительного стресса ядерного фактора- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) в мегакариоцитах. У пациентов с СД 2 типа повышена активность рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1R), что делает тромбоциты этих пациентов более чувствительными к IGF1. IGF1 описан как положительный регулятор передачи сигналов и ответов тромбоцитов, его активация IGF1R способствует гиперактивности тромбоцитов при СД 2 типа [20]. При СД на тромбоцитах изменяется экспрессия интегрин  $\beta$ 3, компо-

Таблица 3/Table 3

### Корреляционная матрица между агрегацией тромбоцитов и содержанием в них продуктов ОМБ и ПОЛ

#### Correlation matrix between platelet aggregation and the content of oxidative modification of proteins and lipid peroxidation in them

Показатели Indicators	АДФ-индуцированная агрегация / ADP-induced aggregation, units/min	Коллаген-индуцированная агрегация / Collagen-induced aggregation, units/min	Адреналин-индуцированная агрегация / Adrenaline-induced aggregation, units/min	Ристомицин-индуцированная агрегация / Ristomycin-induced aggregation, units/minute
ДК (г), е.и.о.	$R=0,21$ $R=0,46^*$	$R=0,53^*$ $R=0,48^*$	$R=0,13$ $R=0,29$	$R=0,50^*$ $R=0,46^*$
КДиСТ (г), е.и.о.	$R=0,39^*$ $R=0,56^*$	$R=0,11$ $R=0,43^*$	$R=0,31$ $R=0,68^*$	$R=0,36$ $R=0,64^*$
ШО (г), е.и.о.	$R=0,06$ $R=0,13$	$R=0,14$ $R=0,18$	$R=0,13$ $R=0,11$	$R=0,15$ $R=0,39^*$
ДК (и), е.и.о.	$R=0,18$ $R=0,31$	$R=0,11$ $R=0,27$	$R=0,32$ $R=0,41^*$	$R=0,31$ $R=0,43^*$
КДиСТ (и), е.и.о.	$R=0,26$ $R=0,38^*$	$R=0,33$ $R=0,59^*$	$R=0,25$ $R=0,33$	$R=0,52^*$ $R=0,28$
ШО (и), е.и.о.	$R=0,11$ $R=0,07$	$R=0,06$ $R=0,14$	$R=0,12$ $R=0,10$	$R=0,11$ $R=0,19$
S ОМБ, у.е./мг белка	$R=0,16$ $R=0,35$	$R=0,27$ $R=0,45^*$	$R=0,40^*$ $R=0,51^*$	$R=0,42^*$ $R=0,59^*$
S общ.МКО, у.е./мг белка	$R=0,52^*$ $R=0,46^*$	$R=0,44^*$ $R=0,28$	$R=0,32$ $R=0,61^*$	$R=0,66^*$ $R=0,27$

**Примечание.** В числителе значения коэффициента корреляции Спирмена (R) в группе 2, в знаменателе – в группе 3; \* – значимая связь ( $p < 0,05$ ); МКО – металл-катализируемое окисление.

**Note.** In the numerator, the values of the Spearman correlation coefficient (R) in group 2, in the denominator – in group 3; \* – significant relationship ( $p < 0.05$ ); MCO – metal catalyzed oxidation.

нента гликопротеина Пб/IIIa, обеспечивающих агрегацию тромбоцитов [21]. Тромбоциты пациентов с СД с плохим контролем гликемии экспрессируют значительно более высокие уровни прооксидантного фермента НАДФН-оксидазы-1 (NOX1) – важного регулятора активности тромбоцитов *in vitro* и *in vivo* [22].

### Выводы:

1. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких тяжелой степени количество тромбоцитов в крови значимо не изменяется, но ускоряется агрегация тромбоцитов, индуцированная коллагеном и ристомицином; в обогащенной тромбоцитами плазме увеличивается суммарное содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции, преимущественно за счет ранних продуктов; в металл-индуцированном режиме детекции увеличивается содержание ОМБ в тромбоцитах за счет ранних и поздних продуктов. В гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта тромбоцитов увеличивается уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

2. У больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа значимо снижается количество тромбоцитов в крови, ускоряется агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, коллагеном, адреналином и ристомицином; происходит значимый рост уровня продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции в тромбоцитах за счет АДНФГ и КДНФГ. У больных этой группы выявлено накопление ранних и поздних продуктов металл-индуцированной ОМБ в тромбоцитах; в гептановой фазе липидного экстракта увеличивается уровень первичных, вторичных и конечных маркеров ПОЛ в тромбоцитах; в изопропанольной фазе увеличивается уровень первичных и вторичных маркеров ПОЛ в тромбоцитах.

3. В группе больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в сочетании с СД 2 типа относительно группы больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких без диабета меньше количество тромбоцитов в крови, ускоряется индуцированная АДФ, коллагеном, адреналином и ристомицином агрегация тромбоцитов; больше в тромбоцитах суммарное содержание продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции, в том числе ранних и поздних; больше содержание первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе липидного экстракта, в изопропанольной фазе – вторичных продуктов ПОЛ.

4. Выявлено, что у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких, в том числе при сочетании с СД 2 типа, агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, коллагеном, адреналином и ристомици-

ном ускоряется по мере увеличения содержания в них продуктов окислительной деструкции липидов и белков. Наличие СД 2 типа у больных с COVID-19-ассоциированным поражением легких в 2 раза увеличивает количество прямых связей умеренной и заметной силы между агрегацией тромбоцитов и содержанием в них продуктов ПОЛ и ОМБ.

### Литература

#### (п.п. 1–12; 14–22 см. References)

13. Дубинина Е.Е. *Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты.* СПб.: Издательство «Медицинская пресса», 2006.

### References

1. Wool G.D., Miller J.L. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology.* 2021; 88(1): 15-27. doi:10.1159/000512007
2. Levi M., Thachil J., Iba T., Levy J.H. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol.* 2020 Jun; 7(6):e438-e440. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30145-9.
3. Liu Y., Sun W., Guo Y., et al. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets.* 2020; 31(4): 490-6. doi:10.1080/09537104.2020.1754383
4. Lador A., Leshem-Lev D., Spectre G., Abelow A., Kornowski R., Lev EI. Characterization of surface antigens of reticulated immature platelets. *J Thromb Thrombolysis.* 2017 Oct; 44(3): 291-7. doi: 10.1007/s11239-017-1533-x
5. 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 Apr; 18(4): 844-7. doi: 10.1111/jth.14768. Epub 2020 Mar 13.
6. Barrett T.J., Lee A.H., Xia Y., et al. Platelet and Vascular biomarkers associate with thrombosis and death in coronavirus disease. *Circ Res.* 2020 Sep 11; 127(7): 945-7. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317803
7. Comer S.P., Cullivan S., Szklanna P.B., Weiss L., Cullen S., Kelliher S., et al: COVID-19 induces a hyperactive phenotype in circulating platelets. *PLoS Biol.* 2021 Feb 17; 19(2):e3001109. doi: 10.1371/journal.pbio.3001109
8. Manne B.K., Denorme F., Middleton E.A., Portier I., Rowley J.W., Stubben C., et al. Platelet gene expression and function in patients with COVID-19. *Blood.* 2020 Sep 10; 136(11): 1317-29. doi: 10.1182/blood.2020007214
9. Gaiz A., Mosawy S., Colson N., Singh I. Thrombotic and cardiovascular risks in type two diabetes; Role of platelet hyperactivity. *Biomed Pharmacother.* 2017 Oct; 94: 679-86. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.121
10. Kaur R., Kaur M., Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: Molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovasc. Diabetol.* 2018; 17: 1–17. doi: 10.1186/s12933-018-0763-3
11. Lima-Martínez M.M., Carrera Boada C., Madera-Silva M.D., Marín W., Contreras M. COVID-19 and diabetes: A bidirectional rela-



- tionship. COVID-19 y diabetes mellitus: una relación bidireccional. *Clin Investig Arterioscler.* 2021; 33(3): 151-7. doi:10.1016/j.arteri.2020.10.001
12. Zhang S., Liu Y., Wang X., et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19. *J Hematol Oncol.* 2020; 13(1): 120. Published 2020 Sep 4. doi:10.1186/s13045-020-00954-7
  13. Dubinina E.E. *Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). Physiological and clinical and biochemical aspects [Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидавание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты]*. Sankt-Peterburg: Medical Press, 2006. (in Russian)
  14. Giannis D., Ziogas I.A., Gianni P. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past. *J Clin Virol.* 2020; 127: 104362. doi:10.1016/j.jcv.2020.104362
  15. Konieczynska M., Fil K., Bazanek M., Undas A. Prolonged duration of type 2 diabetes is associated with increased thrombin generation, prothrombotic fibrin clot phenotype and impaired fibrinolysis. *Thromb. Haemost.* 2014; 111: 685–93. doi: 10.1160/TH13-07-0566
  16. Buch A., Kaur S., Nair R., et al. Platelet volume indices as predictive biomarkers for diabetic complications in type 2 diabetic patients. *J Lab Physicians.* 2017; 9: 84–8.
  17. Hekimsoy Z., Payzin B., Ornek T., et al. Mean platelet volume in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2004; 18: 173–6.
  18. Knebel S.M., Sprague R.S., Stephenson A.H. Prostacyclin receptor expression on platelets of humans with type 2 diabetes is inversely correlated with hemoglobin A1c levels. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2015; 116: 131–5. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2014.12.002
  19. Hu L., Chang L., Zhang Y., et al. Platelets express activated P2Y12 receptor in patients with diabetes mellitus. *Circulation.* 2017; 136: 817–33. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026995
  20. Gligorijevic N., Robajac D., Nedic O. Enhanced platelet sensitivity to IGF-1 in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Biochemistry.* 2019; 84: 1213–9. doi: 10.1134/S0006297919100109
  21. Magwenzi S., Woodward C., Wraith K.S., Aburima A., Raslan Z., Jones H., et al. Oxidized LDL activates blood platelets through CD36/NOX2-mediated inhibition of the cGMP/protein kinase G signaling cascade. *Blood.* 2015; 125: 2693–703. doi: 10.1182/blood-2014-05-574491
  22. Vara D., Cifuentes-Pagano E., Pagano P.J., Pula G. A novel combinatorial technique for simultaneous quantification of oxygen radicals and aggregation reveals unexpected redox patterns in the activation of platelets by different physiopathological stimuli. *Haematologica.* 2019; 104: 1879–91. doi: 10.3324/haematol.2018.208819

**Сведения об авторах:**

**Осиков Михаил Владимирович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии, начальник отдела научной и инновационной работы, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Антонов Владимир Николаевич**, доктор мед. наук, проф., гл. внештатный пульмонолог Управления здравоохранения администрации г. Челябинск, зав. учебной частью и проф. каф. терапии института ДПО, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Зотов Семён Олегович**, пульмонолог ГБУЗ «Областная клиническая больница № 3», ст. лаборант каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Игнатова Галина Львовна**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. терапии Института ДПО, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.