

УДК 616.92/.93

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov109076>

Роль редокс-статуса в дисфункции тромбоцитов при COVID-19-ассоциированной пневмонии тяжелой степени тяжести

М.В. Осиков^{1,2}, В.Н. Антонов^{1,3}, С.О. Зотов^{1,3}, Г.Л. Игнатова^{1,3}¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;² Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия;³ Областная клиническая больница № 3, Челябинск, Россия

Обоснование. Дисфункция тромбоцитов у больных COVID-19 является широко известным осложнением, но ведущие к ней механизмы неясны.

Цель исследования — оценить роль окислительного стресса в изменении функции тромбоцитов в крови больных COVID-19-ассоциированной пневмонией тяжелой степени тяжести.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие больные COVID-19 ($n = 27$) в возрасте от 47 до 75 лет с поражением легких более 50 %, по данным мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки. В контрольную группу включены условно здоровые люди ($n = 24$), сопоставимые по полу и возрасту с пациентами основной группы. У всех больных определены количество тромбоцитов в крови, агрегация тромбоцитов с индуцированием аденозиндифосфатом, коллагеном, адреналином и ристомицином, а также содержание продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в обогащенной тромбоцитами плазме. Подсчет и анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v. 23.

Результаты. Для больных COVID-19 тяжелой степени тяжести характерно снижение количества тромбоцитов в крови. Ускорение агрегации тромбоцитов при индукции коллагеном и ристомицином наблюдали в 1-е сутки, при индукции аденозиндифосфатом, коллагеном, адреналином и ристомицином — на 8-е сутки госпитализации. Установлено, что окислительный стресс при COVID-19 приводит к значимому росту уровня первичных маркеров окислительной модификации белков и увеличению уровня продуктов первичных и вторичных маркеров перекисного окисления липидов в тромбоцитах. Выявлена прямая корреляция между содержанием продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в тромбоцитах и скоростью агрегации тромбоцитов.

Выводы. Исследование углубляет знания о статусе окислительного стресса при инфекции SARS-CoV-2, подтверждая важную роль этого процесса в патогенезе COVID-19. Рост продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков у пациентов с COVID-19-ассоциированной пневмонией тяжелой степени тяжести в динамике течения заболевания может быть одной из причин дисфункции тромбоцитов и, как следствие, приводить к летальным тромботическим осложнениям.

Ключевые слова: COVID-19; тромбоциты; агрегация; редокс-статус; окислительный стресс; свободные радикалы.

Как цитировать:

Осиков М.В., Антонов В.Н., Зотов С.О., Игнатова Г.Л. Роль редокс-статуса в дисфункции тромбоцитов при COVID-19-ассоциированной пневмонии тяжелой степени тяжести // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2022. Т. 14. № 3. С. 69–78. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov109076>

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov109076>

The role of redox status in platelet dysfunction in severe COVID-19-associated pneumonia

Mikhail V. Osikov^{1, 2}, Vladimir N. Antonov^{1, 3}, Semen O. Zotov^{1, 3}, Galina L. Ignatova^{1, 3}¹ South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia;³ Regional Clinical Hospital No. 3, Chelyabinsk, Russia

BACKGROUND: Platelet dysfunction in patients with COVID-19 is a well-known fact; however, its formation mechanisms remain unclear.

AIM: To evaluate the role of oxidative stress in dysfunction of platelets in the patients with severe COVID-19-associated pneumonia.

MATERIALS AND METHODS: The study has involved patients with COVID-19 ($n = 27$) aged 47 to 75 with more than 50% lung damage according to the chest multi-slice computed tomography. The control group has included healthy people comparable in sex and age ($n = 24$). All the patients have undergone evaluation of the number of platelets in blood, measurement of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate, collagen, adrenaline and ristocetin and the level of lipid peroxidation and protein oxidative modifications products in platelet-rich plasma. The calculation and analysis of the obtained data has been carried out using the IBM SPSS Statistics v. 23.

RESULTS: For the patients with severe COVID-19, a decrease in the number of platelets in the blood is characteristic. Acceleration of platelet aggregation induced by collagen and ristocetin has been observed on the 1st day, with the induction of adenosine diphosphate, collagen, adrenaline and ristocetin — on the 8th day of the admission. Oxidative stress in COVID-19 leads to a significant increase in the level of primary markers of protein oxidative modifications in the platelets and an increase in the level of products of primary and secondary lipid peroxidation markers in the platelets. A direct correlation between the products of lipid peroxidation and protein oxidative modifications in the platelets and their aggregation has been found.

CONCLUSIONS: The following study deepens the knowledge of the status of oxidative stress in SARS-CoV-2 infection, confirming its important role in the pathogenesis of COVID-19. The growth of protein oxidative modifications and lipid peroxidation products in patients with severe COVID-19-associated pneumonia in the course of the disease may be one of the causes of platelet dysfunction and, as a result, lead to lethal thrombotic complications.

Keywords: COVID-19; platelets; aggregation; redox status; oxidative stress; free radicals.

To cite this article:

Osikov MV, Antonov VN, Zotov SO, Ignatova GL. The role of redox status in platelet dysfunction in severe COVID-19-associated pneumonia. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2022;14(3):69–78. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov109076>

ОБОСНОВАНИЕ

Впервые снижение уровня тромбоцитов в крови и изменения их агрегации у больных COVID-19, в частности пациентов с тяжелыми формами заболевания, отметили в Китае [1]. В настоящее время существуют данные о том, что количество тромбоцитов является прогностически значимым критерием для оценки тяжести течения инфекции и возможной смертности при COVID-19. Однако сравнение агрегаций тромбоцитов в ответ на аденозиндифосфат, адреналин, ристомицин, коллаген и другие индукторы ранее не проводили.

Тромбоциты играют ключевую роль в системе гемостаза [2]. Определение скорости агрегации тромбоцитов не является рутинным методом клинической диагностики в лечебных учреждениях России, однако данное исследование позволяет судить о состоянии клеточного гемостаза у пациента, а также эффектах лечения. В целом уменьшение количества тромбоцитов в крови ниже индивидуального для исследования порога в 5,1 раза увеличивает вероятность тяжелого течения COVID-19 [3]. Низкий уровень тромбоцитов коррелирует с большей тяжестью заболевания в таких шкалах, как MODS (Multiple Organ Dysfunction Score), SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) и APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) [4].

Во время инфекции активированные тромбоциты участвуют в образовании тромба, ишемии тканей и легочной тромбоэмболии. Вирусы иммунодефицита человека, гепатита С, гриппа, Эбола, денге и другие могут напрямую вызывать гиперреактивность тромбоцитов [5, 6]. COVID-19 является респираторным заболеванием, но РНК SARS-CoV-2 может быть обнаружена в крови и использована в качестве индикатора тяжести заболевания [7]. В настоящее время высказаны предположения о способности SARS-CoV-2 вызывать тромбоз за счет активации тромбоцитов крови [8]. Существуют доказательства, что Spike-белок SARS-CoV-2 напрямую связывается с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 тромбоцитов, активирует тромбоциты *in vitro* и усиливает тромбообразование *in vivo* [8]. Исследователи сообщают о прямой стимуляции тромбоцитов вирусом SARS-CoV-2, приводящей к высвобождению факторов свертывания крови, секреции провоспалительных цитокинов и образованию лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов [9]. Показана независимая связь между количеством тромбоцитов в крови, тяжестью заболевания и риском смертности госпитализированных пациентов с COVID-19 [9].

Несколько исследований продемонстрировали, что производство избыточного количества активных радикалов и эскалация окислительного стресса оказывают влияние на патогенез респираторных вирусных инфекций, таких как SARS-CoV [10]. Окислительный стресс может быть ключевым фактором в патогенезе COVID-19 из-за его важной роли в воспалении и активации тромбоцитов

[11, 12]. К настоящему времени проведены единичные исследования о роли редокс-статуса в патогенезе COVID-19 [13].

Цель исследования — оценить роль окислительного стресса в патогенезе изменений агрегации тромбоцитов у больных COVID-19-ассоциированной пневмонией тяжелой степени тяжести.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 27 больных COVID-19, госпитализированных в Областную клиническую больницу № 3 г. Челябинска (14 женщин и 13 мужчин), в возрасте от 47 до 75 лет без выявленных ранее онкологических заболеваний, хронических заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, эндокринной систем и органов желудочно-кишечного тракта, а также не принимавших препараты, влияющие на функцию тромбоцитов, перед госпитализацией. У всех пациентов методом мультиспиральной компьютерной томографии грудной клетки выявлена двусторонняя вирусная пневмония с поражением легких более 50 % (тяжелая степень тяжести в соответствии с клинико-рентгенологическими критериями временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции» Минздрава России [14]). Диагноз COVID-19 подтвержден обнаружением на слизистых оболочках зева и носовой полости РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с использованием набора реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (Вектор Бест, Россия). В контрольную группу вошли 24 клинически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с больными основной группы. Забор крови для исследования проведен в 1-е и 8-е сутки нахождения пациента в стационаре. Стандартную тромбопрофилактику нефракционированным гепарином начинали после забора крови на исследование. Помимо антикоагулянтной терапии больные получали стандартную терапию Фавибирином и глюкокортикоидами, а также антибактериальную терапию.

Подсчет количества тромбоцитов в крови осуществляли по методу Фонио. Агрегацию тромбоцитов оценивали на лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов АЛАТ-2 (Биола, Россия), в качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (2,5 ммоль/мл), коллаген (3,3 мкг/мл), адреналин (5 мкг/мл), ристомицин (7,5 мг/мл) (Технология Стандарт, Россия), учитывали количество единиц среднего размера агрегатов в минуту, за единичный радиус принимали 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, Россия) [29]. ОМБ исследовали по содержанию динитрофенилгидразонов альдегида и кетона.

Содержание липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта рассчитывали в виде единиц индексов окисления, отражающих относительный уровень первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ. Значение E232/E220 показывает относительное содержание диеновых конъюгатов (первичных продуктов), E278/220 — кетодиенов и сопряженных триенов (вторичных продуктов), E400/E220 — Шиффовых оснований (конечных продуктов).

Статистическая обработка 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} и Q_{75} — значения нижнего и верхнего квартилей соответственно. Для оценки распределения непрерывных переменных использован тест Шапиро – Уилка. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (r). Силу связи оценивали по шкале Чеддока. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных COVID-19-ассоциированной пневмонией выявлено статистически значимое снижение количества тромбоцитов в крови (по медиане) на 29 % при поступлении в стационар, и на 31 % — на 8-е сутки госпитализации в сравнении со значениями в контрольной группе (табл. 1). При оценке агрегации тромбоцитов у больных COVID-19-ассоциированной пневмонией обнаружено ускорение индуцированной коллагеном и ристомицином агрегации тромбоцитов на 62 и 20 % соответственно в 1-е сутки (по медиане), при этом агрегация тромбоцитов с аденозиндифосфатом и адреналином в 1-е сутки значимо не менялась.

В основной группе индуцированная аденозиндифосфатом агрегация тромбоцитов на 8-е сутки ускорилась на 64 % по сравнению с контрольным показателем и на 53 % — по сравнению со значениями в 1-е сутки (по медиане). Индуцированная коллагеном агрегация тромбоцитов на 8-е сутки была быстрее на 142 % по сравнению с контрольным показателем и на 81 % — по сравнению со значениями в 1-е сутки (по медиане). Индуцированная адреналином агрегация тромбоцитов на 8-е сутки была выше на 149 % по сравнению с контрольным показателем и на 112 % — по сравнению со значениями в 1-е сутки (по медиане). Индуцированная ристомицином агрегация тромбоцитов на 8-е сутки была выше на 49 % по сравнению с контрольным значением и на 29 % — по сравнению с показателями агрегации в 1-е сутки (по медиане).

В спонтанном режиме детекции у больных COVID-19-ассоциированной пневмонией суммарное содержание продуктов ОМБ в обогащенной тромбоцитами плазме было выше на 19 % на 1-е сутки и на 37 % — на 8-е сутки (по медиане) по сравнению с соответствующим показателем в группе контроля (табл. 2). Суммарное содержание динитрофенилгидразонов альдегида выросло (по медиане) на 25 % в 1-е и на 45 % — на 8-е сутки по сравнению со значением в группе контроля. Суммарное содержание динитрофенилгидразонов кетона у пациентов основной группы значимо выросло на 8-е сутки госпитализации и составило 145 % от значений группы контроля (по медиане), а на 1-е сутки значимо не менялось.

В металл-зависимом режиме суммарное содержание продуктов ОМБ в обогащенной тромбоцитами плазме у пациентов основной группы увеличилось на 1-е сутки и составило 125 % от значения группы контроля (по медиане). На 8-е сутки суммарный уровень продуктов ОМБ составил 116 % (по медиане) от значения группы контроля. Суммарное содержание динитрофенилгидразонов альдегида у больных COVID-19-ассоциированной пневмонией выросло в 1-е сутки на 24 %, в 8-е сутки — на 15 % (по медиане) по сравнению с показателем в группе контроля.

Таблица 1. Количество в крови и агрегация тромбоцитов в динамике COVID-19-ассоциированной пневмонии

Table 1. Blood count and platelet aggregation in the dynamics of COVID-19-associated pneumonia

Показатель	Группа контроля (n = 24)	Основная группа (n = 27)	
		1-е сутки госпитализации	8-е сутки госпитализации
Содержание тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	324 (202; 428)	236 (228; 449)*	224 (104; 290)*
Аденозиндифосфат-индуцированная агрегация, ед/мин	20,32 (11,46; 28,40)	22,60 (14,40; 31,88)	33,26 (25,19; 38,55)*.#
Коллаген-индуцированная агрегация, ед/мин	10,86 (5,38; 14,21)	17,55 (12,60; 25,88)*	26,29 (17,13; 35,26)*.#
Адреналин-индуцированная агрегация, ед/мин	6,21 (1,88; 9,36)	8,53 (3,12; 13,58)	15,48 (10,33; 17,57)*.#
Ристомицин-индуцированная агрегация, ед/мин	31,09 (24,41; 39,12)	37,21 (31,14; 44,69)*	46,52 (34,78; 56,32)*.#

Примечание. * значимые ($p < 0,01$) отличия со значениями в группе контроля; # значимые ($p < 0,01$) отличия со значениями в основной группе на 1-е сутки госпитализации. Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей.

Таблица 2. Показатели продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в обогащенной тромбоцитами плазме в динамике COVID-19-ассоциированной пневмонии

Table 2. Indicators of lipid peroxidation and protein oxidative modifications products in platelet-rich plasma in the dynamics of COVID-19-associated pneumonia

Показатель	Группа контроля (n = 24)	Основная группа (n = 27)		
		1-е сутки госпитализации	8-е сутки госпитализации	
Продукты окислительной модификации белков в спонтанном режиме детекции	суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков, е. о. п./мг белка	29,92 (25,11; 39,67)	35,76 (32,86; 38,30)*	40,94 (38,6;42,89)*.#
	суммарное содержание динитрофенилгидразонов альдегида, е. о. п./мг белка	27,37 (25,17; 37,43)	34,23 (31,42; 38,18)*	39,78 (37,5;41,69)*.#
	суммарное содержание динитрофенилгидразонов кетона, е. о. п./мг белка	1,05 (0,95; 1,14)	1,21 (1,1; 1,23)	1,52 (1,43; 1,63)*.#
Продукты окислительной модификации белков в металл-катализируемом режиме детекции	суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков, е. о. п./мг белка	63,2 (60,81; 66,51)	79,31 (64,75; 83,58)*	73,6 (71,32; 77,07)*
	суммарное содержание динитрофенилгидразонов альдегида, е. о. п./мг белка	54,09 (52,21; 56,40)	67,33 (56,32;71,3)*	63,22 (60,73; 65,75)*.#
	суммарное содержание динитрофенилгидразонов кетона, е. о. п./мг белка	8,3 (8,12; 9,06)	11,58 (8,43; 13,06)*	10,74 (10,36; 11,30)*
Продукты перекисного окисления липидов	диеновые конъюгаты (г), е. и. о.	0,55 (0,49; 0,58)	0,69 (0,63; 0,71)*	0,76 (0,67; 0,81)*.#
	кетодиены и сопряженные триены (г), е. и. о.	0,05 (0,04; 0,08)	0,09 (0,07; 0,11)*	0,08 (0,07; 0,09)*
	Шиффовы основания (г), е. и. о.	0,06 (0,04; 0,08)	0,11 (0,08; 0,12)*	0,12 (0,10; 0,13)*
	диеновые конъюгаты (и), е. и. о.	0,51 (0,42; 0,71)	0,74 (0,64; 0,82)*	0,78 (0,66; 0,87)*
	кетодиены и сопряженные триены (и), е. и. о.	0,30 (0,22; 0,39)	0,44 (0,34; 0,56)*	0,36 (0,30; 0,41)*.#
	Шиффовы основания (и), е. и. о.	0,03 (0,03; 0,04)	0,03 (0,03; 0,03)	0,04 (0,03; 0,04)

Примечание. (г) — гептановая фаза экстракта; (и) — изопропанольная фаза экстракта; е. и. о. — единицы индексов окисления; е. о. п. — единицы оптической плотности; * значимые ($p < 0,01$) отличия со значениями в группе контроля; # значимые ($p < 0,01$) отличия со значениями в основной группе на 1-е сутки госпитализации. Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей.

Суммарное содержание динитрофенилгидразонов кетона в основной группе выросло на 40 % по сравнению со значением в группе контроля в 1-е сутки и значимо не изменилось на 8-е сутки (по медиане).

У больных COVID-19-ассоциированной пневмонией происходит накопление продуктов ПОЛ в обогащенной тромбоцитами плазме (табл. 2). В гептановой фракции липидного экстракта плазмы, концентрирующей большую часть резервных липидов (триацилглицеридов), происходит накопление диеновых конъюгатов, уровень которых был выше на 25 % в 1-е сутки и на 38 % — на 8-е сутки по сравнению с показателем в группе контроля (по медиане). Уровень кетодиенов и сопряженных

триенов у этих пациентов был выше на 80 % в 1-е сутки и на 60 % в 8-е сутки — по сравнению с контрольным значением (по медиане). Рост уровня Шиффовых оснований по медиане в гептановой фазе составил 83 % на 1-е сутки и 100 % — на 8-е сутки по сравнению с показателем в группе контроля. В изопропанольной фракции, аккумулирующей основное количество мембранных фосфолипидов, содержание диеновых конъюгатов у пациентов основной группы в 1-е сутки было повышено на 45 %, в 8-е сутки — на 53 % (по медиане). При этом рост уровня кетодиенов и сопряженных триенов составил 47 % на 1-е сутки и на 20 % — на 8-е сутки по сравнению с контрольным показателем (по медиане). Уровень

Таблица 3. Корреляционная матрица связи между агрегацией тромбоцитов и уровнями содержащихся в них продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков

Table 3. Correlation matrix of the relationship between platelet aggregation and the levels of products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins contained in them

Показатель	Аденозиндифосфат-индуцированная агрегация	Коллаген-индуцированная агрегация	Адреналин-индуцированная агрегация	Ристомидин-индуцированная агрегация
Диеновые конъюгаты (г), е. и. о.	$r = 0,18$ $r = 0,39^*$	$r = 0,31$ $r = 0,45^*$	$r = 0,03$ $r = 0,39^*$	$r = 0,51^*$ $r = 0,64^*$
Кетодиены и сопряженные триены (г), е. и. о.	$r = 0,10$ $r = 0,27$	$r = 0,11$ $r = 0,17$	$r = 0,32$ $r = 0,12$	$r = 0,16$ $r = 0,40^*$
Шиффовы основания (г), е. и. о.	$r = 0,17$ $r = 0,41^*$	$r = 0,19$ $r = 0,38^*$	$r = 0,13$ $r = 0,24$	$r = 0,55^*$ $r = 0,58^*$
Диеновые конъюгаты (и), е. и. о.	$r = 0,10$ $r = 0,44^*$	$r = 0,52^*$ $r = 0,56^*$	$r = 0,32$ $r = 0,43^*$	$r = 0,55^*$ $r = 0,48^*$
Кетодиены и сопряженные триены (и), е. и. о.	$r = 0,43^*$ $r = 0,17$	$r = 0,41^*$ $r = 0,30$	$r = 0,49^*$ $r = 0,18$	$r = 0,58^*$ $r = 0,14$
Шиффовы основания (и), е. и. о.	$r = 0,10$ $r = 0,04$	$r = 0,05$ $r = 0,07$	$r = 0,12$ $r = 0,08$	$r = 0,11$ $r = 0,07$
Суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков при спонтанном режиме детекции, е. о. п./мг белка	$r = 0,16$ $r = 0,41^*$	$r = 0,29$ $r = 0,43^*$	$r = 0,03$ $r = 0,18$	$r = 0,42^*$ $r = 0,49^*$
Суммарное содержание продуктов окислительной модификации белков при металл-катализируемом режиме детекции, е. о. п./мг белка	$r = 0,27$ $r = 0,62^*$	$r = 0,39^*$ $r = 0,48^*$	$r = 0,32$ $r = 0,50^*$	$r = 0,55^*$ $r = 0,19$

Примечание. (г) — гептановая фаза экстракта; (и) — изопропанольная фаза экстракта; е. и. о. — единицы индексов окисления; r — коэффициент корреляции Спирмена; е. о. п. — единицы оптической плотности; * значимая связь ($p < 0,05$). Над чертой указаны значения на 1-е сутки, под чертой — на 8-е сутки исследования.

Шиффовых оснований в изопропанольной фракции за период наблюдения значимо не менялся.

Выявлена прямая связь умеренной силы между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной аденозиндифосфатом, и уровнем вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе на 1-е сутки, а также уровнями первичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, первичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе и общего содержания продуктов ОМБ в спонтанном и металл-индуцированном режимах детекции на 8-е сутки исследования. Связь умеренной силы обнаружена между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, и уровнями первичных и вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, а также общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме на 1-е сутки исследования. Прямая связь скорости агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, с содержанием первичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе и продуктов ОМБ в спонтанном и металл-индуцированном режимах выявлена на 8-е сутки. Связь умеренной силы определена между скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной адреналином, и уровнем вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе на 1-е сутки, а также уровнями первичных продуктов

ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах и общим содержанием продуктов ОМБ в металл-индуцированном режиме на 8-е сутки исследования. Прямая связь средней силы выявлена между скоростью ристомидин-индуцированной агрегации и уровнями первичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, первичных и вторичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе, а также общим содержанием продуктов ОМБ в спонтанном и металл-индуцированном режимах на 1-е сутки исследования. На 8-е сутки госпитализации обнаружены прямая связь средней силы между скоростью ристомидин-индуцированной агрегации и уровнями первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой фазе, а также умеренная прямая связь скорости этой агрегации с уровнем первичных продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе и общим уровнем продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции (табл. 3).

Следует отметить количество значимых связей индукторов агрегации с показателями ПОЛ и ОМБ. На 1-е сутки с адреналин-индуцированной агрегацией выявлена 1 связь, с коллаген-индуцированной агрегацией — 3 связи, с аденозиндифосфат-индуцированной агрегацией — 1 связь и с ристомидин-индуцированной агрегацией — 6 связей. На 8-е сутки выявлено 5 свя-

зей с аденозиндифосфат-индуцированной агрегацией, 5 связей — с коллаген-индуцированной агрегацией, 3 связи — с адреналин-индуцированной агрегацией и 5 связей — с ристомидин-индуцированной агрегацией. Таким образом, наибольшее количество связей обнаружено на 8-е сутки (18 против 10), причем среди индукторов агрегации максимальное количество связей (11) показала ристомидин-индуцированная агрегация.

ОБСУЖДЕНИЕ

Тромбоцитопения у пациентов с COVID-19 обусловлена многими факторами. Одной из причин снижения количества тромбоцитов в крови может быть их недостаточная продукция костным мозгом. Доказано, что коронавирусы могут инфицировать клетки костного мозга, провоцируя аномалии гемопоэза или вызывая аутоиммунную реакцию организма на клетки крови [7]. Подобный механизм может присутствовать у вируса SARS-CoV-2, принадлежащего к этому семейству.

Еще одной причиной снижения количества тромбоцитов в крови является их повышенное потребление. Показано, что влияние инфекции, вызванной SARS-CoV-2, приводит к повреждению эндотелия в сосудах легких, вызывая активацию тромбоцитов, их агрегацию и тромбоз с последующей тромбоцитопенией и способствует повреждению легких и микрососудистому тромбозу при пневмонии [15]. Высказано предположение, что при SARS-CoV-2 присутствует фонный синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания разной степени выраженности, обуславливающий снижение уровня тромбоцитов в крови вследствие их потребления [16]. Причинами повышенного потребления тромбоцитов также могут стать тромбоцическая микроангиопатия и гепарин-индуцированная тромбоцитопения [16, 17]. Немаловажным фактором, влияющим на активацию тромбоцитов и их потребление является гиперфибриногенемия. Предыдущие исследования показали, что уровень фибриногена у пациентов с COVID-19 повышен и может активировать тромбоциты, ускорять их агрегацию и усугублять тромбоцитопению [18].

Непосредственное разрушение тромбоцитов вследствие прямого вирусного повреждения может стать одним из механизмов, вызывающих тромбоцитопению. Ранее проведенные исследования показали, что между некоторыми вирусами и тромбоцитами существует прямое взаимодействие [19]. Возможно, вирус SARS-CoV-2 способен напрямую активировать тромбоциты через взаимодействие Spike-белка и рецепторов ангиотензинпревращающего фермента 2 тромбоцитов, что также может способствовать тромбоцитопении.

Однако тромбоцитопения не всегда носит явный характер из-за реактивного увеличения продукции тромбоцитов в рамках острофазового ответа на инфекционный процесс. Классическая модель активации тромбоцитов описывает серию фенотипических и морфологических

изменений, в результате которых тромбоциты приобретают адгезивность к сосудистой стенке в ответ на воздействие активаторов (например, коллагена, аденозиндифосфата). Широко распространенное мнение о том, что повреждение сосудов является единственным фактором, определяющим активацию тромбоцитов, было в значительной степени отвергнуто после доказательств способности различных патофизиологических стимулов, включая провоспалительные цитокины и инфекционные агенты (по данным обзора J.W. Semple, J. Freedman и соавт. [6]), активировать тромбоциты без заметного повреждения сосудов. Как следствие, активация тромбоцитов не ограничена возникновением локального тромбоцического события, вызванного повреждением сосуда, и часто является частью системного воспалительного ответа. Образование гетеротипических агрегатов в периферическом кровотоке наблюдают не только при острых тромбоцических явлениях [9–12], но и при таких клинических состояниях, связанных с высокой тромбогенностью крови при отсутствии внутрисосудистого тромбоза, как аутоиммунные [13] и гематологические заболевания [14, 15], а также при наличии сердечно-сосудистого риска [16–18].

Окислительный стресс может играть ключевую роль в патогенезе COVID-19 из-за его значительной роли в ответе макроорганизма на инфекцию и воспаление [11]. В нескольких исследованиях сообщено о способности вирусов нарушать редокс-статус клетки [12]. SARS-CoV-2 стимулирует образование активных форм кислорода, включая супероксидный анион, свободные радикалы и гидропероксиды. Большинство внутриклеточных активных форм кислорода образуются из супероксид-аниона, который вместе с перекисью водорода играет критическую роль в инициации изменений в клеточных сигнальных событиях [23]. Активные формы кислорода могут реагировать с липидами, белками и ДНК, вызывая необратимые нарушения их структуры и функции [20]. Появляется все больше доказательств того, что активные формы кислорода регулируют сигнальные пути, участвующие в физиологических и патологических процессах [10, 22]. Тромбоциты активируются при воздействии активных форм кислорода, как экзогенных (происходящих из других клеток) [23], так и эндогенных (образующихся в самих активированных тромбоцитах) [24]. В присутствии высокой внутриклеточной концентрации активных форм кислорода тромбоциты демонстрируют повышенную способность к активации агонистами [25].

В ходе данного исследования установлена связь между скоростью агрегации тромбоцитов и содержанием в них продуктов ПОЛ и ОМБ. Одним из факторов, вызывающих повышение содержания активных форм кислорода и последующее повреждение тромбоцитов, является блокировка рецепторов ангиотензинпревращающего фермента 2 вирусом, что ведет к дисбалансу в ренин-ангиотензиновой системе. Указанный дисбаланс приводит к усилению перекисного окисления липидов,

карбонилированию белков и повреждению мембран тромбоцитов [26].

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют об ускорении агрегации тромбоцитов, что может быть следствием дисфункции их мембран, вызванной окислительным стрессом. Продемонстрировано влияние наличия тяжелой COVID-19-ассоциированной пневмонии на количество в крови тромбоцитов и их агрегацию, которое необходимо учитывать в выборе антикоагулянтной терапии при COVID-19. Определение показателей агрегации тромбоцитов может способствовать совершенствованию методов ранней диагностики и прогнозированию возможных осложнений, связанных с патологией системы гемостаза у больных COVID-19 и, как следствие, уменьшить тяжесть и снизить частоту тромботических осложнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У больных COVID-19-ассоциированной пневмонией тяжелой степени тяжести выявлено снижение количества тромбоцитов в крови на 1-е и 8-е сутки госпитализации по сравнению с показателями в группе контроля. Ускорение агрегации тромбоцитов в 1-е сутки наблюдали при индукции коллагеном и ристомисином, а в 8-е сутки — при индукции аденозиндифосфатом, коллагеном, адреналином и ристомисином.
2. Окислительный стресс при COVID-19 приводит к значимому росту уровня продуктов ОМБ в спонтанном режиме детекции в тромбоцитах как на 1-е, так и на 8-е сутки госпитализации, преимущественно за счет роста уровня ранних маркеров (динитрофенилгидразонов альдегида). Накопление ранних и поздних продуктов металл-индуцированной ОМБ в тромбоцитах произошло на 1-е сутки и снизилось к 8-м суткам госпитализации. В гептановой фазе увеличился уровень первичных, вторичных и конечных маркеров ПОЛ, а в изопропанольной фазе возрос уровень первичных и вторичных маркеров ПОЛ в тромбоцитах на 1-е и 8-е сутки госпитализации.
3. Выявлены прямые ассоциации умеренной и заметной силы между содержанием в тромбоцитах продуктов ПОЛ и ОМБ в тромбоцитах и скоростью агрегации тромбоцитов, индуцированной аденозиндифосфатом, коллагеном, адреналином и ристомисином, преимущественно на 8-е сутки исследования. Максимальное количество связей выявлено между количеством продуктов ПОЛ и ОМБ в тромбоцитах и скоростью

индукции ристомисином (11), меньше связей зафиксировано со скоростями индукции аденозиндифосфатом (6), коллагеном (8) и адреналином (4).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Южно-Уральского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол № 4 от 24 мая 2021 г.).

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие пациентов на анализ и публикацию медицинских данных.

Благодарности. Авторы выражают признательность коллективу лаборатории Южно-Уральского государственного медицинского университета г. Челябинска за проведенные биохимические исследования (Л.Р. Пыховой, А.И. Синицкому).

Вклад авторов. М.В. Осиков — концепция и дизайн исследования, редактирование текста; В.Н. Антонов — анализ полученных данных, диагностические исследования, редактирование текста; С.О. Зотов — сбор и обработка материалов, написание текста, обзор литературы; Г.Л. Игнатова — анализ полученных данных, написание текста.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding. The study had no external funding.

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

Ethics approval. The study protocol has been approved by the ethics committee of the South Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia (protocol No. 4 dated May 24, 2021).

Consent for publication. Written consent has been obtained from the patients for publication of relevant medical information.

Acknowledgments. We express gratitude the team of the laboratory of the South-Ural State Medical University, Chelyabinsk for the biochemical studies (L.R. Pykhova, A.I. Sinitsky).

Author contributions. M.V. Osikov — research concept and design, text editorial; V.N. Antonov — data analysis, diagnostic studies, text editorial; S.O. Zotov — collection and processing of the materials, text writing, literature review; G.L. Ignatova — text wrting, data analysis.

All authors made a significant contribution to the study and preparation of the article and read and approved the final version before its publication.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yang X., Yang Q., Wang Y. et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19 // *J. Thromb. Haemost.* 2020. Vol. 18, No. 6. P. 1469–1472. DOI: 10.1111/jth.14848
2. Xu X.R., Zhang D., Oswald B.E. et al. Platelets are versatile cells: New discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tu-

mor metastasis and beyond // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2016. Vol. 53, No. 6. P. 409–430. DOI: 10.1080/10408363.2016.1200008

3. Asakura H., Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation // *Int. J. Hematol.* 2021. Vol. 113, No. 1. P. 45–57. DOI: 10.1007/s12185-020-03029-y

4. Warkentin T.E., Kaatz S. COVID-19 versus HIT hypercoagulability // *Thromb. Res.* 2020. Vol. 196. P. 38–51. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.08.017
5. Assinger A., Kral J.B., Yaiw K. et al. Human cytomegalovirus-platelet interaction triggers toll-like receptor 2-dependent proinflammatory and proangiogenic responses // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. Vol. 34, No. 4. P. 801–809. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303287
6. Guo L., Feng K., Wang Y.C. et al. Critical role of CXCL4 in the lung pathogenesis of influenza (H1N1) respiratory infection // *Mucosal Immunol.* 2017. Vol. 10, No. 6. P. 1529–1541. DOI: 10.1038/mi.2017.1
7. Chen W., Lan Y., Yuan X. et al. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity // *Emerg. Microbes Infect.* 2020. Vol. 9, No. 1. P. 469–473. DOI: 10.1080/22221751.2020.1732837
8. Zhang S., Liu Y., Wang X. et al. SARS-CoV-2 binds platelet ACE2 to enhance thrombosis in COVID-19 // *J. Hematol. Oncol.* 2020. Vol. 13, No. 1. P. 120. DOI: 10.1186/s13045-020-00954-7
9. 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. Vol. 18, No. 4. P. 844–847. DOI: 10.1111/jth.14768
10. Camini F.C., da Silva Caetano C.C., Almeida L.T., de Brito Magalhães C.L. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis // *Arch. Virol.* 2017. Vol. 162, No. 4. P. 907–917. DOI: 10.1007/s00705-016-3187-y
11. Ntyonga-Pono M.P. COVID-19 infection and oxidative stress: an under-explored approach for prevention and treatment? // *Pan. Afr. Med. J.* 2020. Vol. 35, No. Suppl 2. P. 12. DOI: 10.11604/pamj.2020.35.2.22877
12. Derouiche S. Oxidative stress associated with SARS-Cov-2 (COVID-19) increases the severity of the lung disease — a systematic review // *J. Infect. Dis. Epidemiol.* 2020. DOI: 10.23937/2474-3658/1510121
13. Cecchini R., Cecchini A.L. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression // *Med. Hypotheses.* 2020. Vol. 143. P. 110102. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110102
14. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), 15 версия от 22.02.2022 [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf. Дата обращения: 15.09.2022.
15. Llitjos J.F., Leclerc M., Chochois C. High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients // *J. Thromb. Haemost.* 2020. Vol. 18, No. 7. P. 1743–1746. DOI: 10.1111/jth.14869
16. Warkentin T.E., Kaatz S. COVID-19 versus HIT hypercoagulability // *Thromb. Res.* 2020. Vol. 196. P. 38–51. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.08.017
17. Patell R., Khan A.M., Bogue T. et al. Heparin induced thrombocytopenia antibodies in Covid-19 // *Am. J. Hematol.* 2020. Vol. 95, No. 10. P. E295–E296. DOI: 10.1002/ajh.25935
18. Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *Lancet.* 2020. Vol. 395, No. 10223. P. 507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
19. Sugiyama M.G., Gamage A., Zyla R. et al. Influenza virus infection induces platelet-endothelial adhesion which contributes to lung injury // *J. Virol.* 2015. Vol. 90, No. 4. P. 1812–1823. DOI: 10.1128/JVI.02599-15
20. Aykac K., Ozsurekci Y., Yayla B.C.C. et al. Oxidant and antioxidant balance in patients with COVID-19 // *Pediatr. Pulmonol.* 2021. Vol. 56. P. 2803–2810. DOI: 10.1002/ppul.25549
21. Buffinton G.D., Christen S., Peterhans E., Stocker R. Oxidative stress in lungs of mice infected with influenza A virus // *Free Radic. Res. Commun.* 1992. Vol. 16. P. 99–110. DOI: 10.3109/10715769209049163
22. Selemidis S., Seow H.J., Broughton B.R.S. et al. Nox1 oxidase suppresses influenza a virus-induced lung inflammation and oxidative stress // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, No. 4. P. e60792. DOI: 10.1371/journal.pone.0060792
23. Pincemail J., Cavalier E., Charlier C. et al. Oxidative stress status in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. A pilot study // *Antioxidants (Basel).* 2021. Vol. 10, No. 2. P. 257. DOI: 10.3390/antiox10020257
24. Abdi A., Jalilian M., Sarbarzeh P.A., Vlaisavljevic Z. Diabetes and COVID-19: a systematic review on the current evidences // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2020. Vol. 166. P. 108347. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108347
25. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // *Science.* 2020. Vol. 367, No. 6483. P. 1260–1263. DOI: 10.1126/science.abb2507
26. Hati S., Bhattacharyya S. Impact of thiol-disulfide balance on the binding of Covid-19 spike protein with angiotensin-converting enzyme 2 receptor // *ACS Omega.* 2020. Vol. 5, No. 26. P. 16292–16298. DOI: 10.1021/acsomega.0c02125

REFERENCES

1. Yang X, Yang Q, Wang Y, et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *J Thromb Haemost.* 2020;18(6):1469–1472. DOI: 10.1111/jth.14848
2. Xu XR, Zhang D, Oswald BE, et al. Platelets are versatile cells: New discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tumor metastasis and beyond. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2016;53(6):409–430. DOI: 10.1080/10408363.2016.1200008
3. Asakura H, Ogawa H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol.* 2021;113(1):45–57. DOI: 10.1007/s12185-020-03029-y
4. Warkentin TE, Kaatz S. COVID-19 versus HIT hypercoagulability. *Thromb Res.* 2020;196:38–51. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.08.017
5. Assinger A, Kral JB, Yaiw K, et al. Human cytomegalovirus-platelet interaction triggers toll-like receptor 2-dependent proinflammatory and proangiogenic responses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(4):801–809. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303287
6. Guo L, Feng K, Wang YC, et al. Critical role of CXCL4 in the lung pathogenesis of influenza (H1N1) respiratory infection. *Mucosal Immunol.* 2017;10(6):1529–1541. DOI: 10.1038/mi.2017.1
7. Chen W, Lan Y, Yuan X, et al. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):469–473. DOI: 10.1080/22221751.2020.1732837
8. 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. DOI: 10.1186/s13045-020-00954-7
9. 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. DOI: 10.1111/jth.14768

10. Camini FC, da Silva Caetano CC, Almeida LT, de Brito Magalhães CL. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis. *Arch Virol.* 2017;162(4):907–917. DOI: 10.1007/s00705-016-3187-y
11. Ntyonga-Pono MP. COVID-19 infection and oxidative stress: an under-explored approach for prevention and treatment? *Pan Afr Med J.* 2020;35(Suppl 2):12. DOI: 10.11604/pamj.2020.35.2.22877
12. Derouiche S. Oxidative stress associated with SARS-CoV-2 (COVID-19) increases the severity of the lung disease — a systematic review. *J Infect Dis Epidemiol.* 2020. DOI: 10.23937/2474-3658/1510121
13. Cecchini R, Cecchini AL. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. *Med Hypotheses.* 2020;143:110102. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110102
14. Federal clinical guidelines Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19), 15 version 02.02.2022 [Internet]. Available from: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf. Accessed: 15.09.2022. (In Russ.)
15. Llitjos JF, Leclerc M, Chochois C. High incidence of venous thromboembolic events in anticoagulated severe COVID-19 patients. *J Thromb Haemost.* 2020;18(07):1743–1746. DOI: 10.1111/jth.14869
16. Warkentin TE, Kaatz S. COVID-19 versus HIT hypercoagulability. *Thromb Res.* 2020;196:38–51. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.08.017
17. Patell R, Khan AM, Bogue T. et al. Heparin induced thrombocytopenia antibodies in Covid-19. *Am J Hematol.* 2020;95(10):E295–E296. DOI: 10.1002/ajh.25935
18. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
19. Sugiyama MG, Gamage A, Zyla R, et al. Influenza virus infection induces platelet-endothelial adhesion which contributes to lung injury. *J Virol.* 2015;90(4):1812–1823. DOI: 10.1128/JVI.02599-15
20. Aykac K, Ozsurekci Y, Yayla BCC, et al. Oxidant and antioxidant balance in patients with COVID-19. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56:2803–2810. DOI: 10.1002/ppul.25549
21. Buffinton GD, Christen S, Peterhans E, Stocker R. Oxidative stress in lungs of mice infected with influenza A virus. *Free Radic Res Commun.* 1992;16:99–110. DOI: 10.3109/10715769209049163
22. Selemidis S, Seow HJ, Broughton BRS, et al. Nox1 oxidase suppresses influenza a virus-induced lung inflammation and oxidative stress. *PLoS One.* 2013;8(4):e60792. DOI: 10.1371/journal.pone.0060792
23. Pincemail J, Cavalier E, Charlier C, et al. Oxidative stress status in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. A pilot study. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(2):257. DOI: 10.3390/antiox10020257
24. Abdi A, Jalilian M, Sarbarzeh PA, Vlaisavljevic Z. Diabetes and COVID-19: a systematic review on the current evidences. *Diabetes Res Clin Pract.* 2020;166:108347. DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108347
25. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367(6483):1260–1263. DOI: 10.1126/science.abb2507
26. Hati S, Bhattacharyya S. Impact of thiol-disulfide balance on the binding of Covid-19 spike protein with angiotensin-converting enzyme 2 receptor. *ACS Omega.* 2020;5(26):16292–16298. DOI: 10.1021/acsomega.0c02125

ОБ АВТОРАХ

* Семён Олегович Зотов;

адрес: Россия, 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>;
e-mail: semenz2007@yandex.ru

Владимир Николаевич Антонов, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>;
ResearcherID: F-9640-2017;
Scopus Author ID: 56638963000;
eLibrary SPIN: 5660-2160;
e-mail: ant-vn@yandex.ru

Михаил Владимирович Осиков, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>;
Scopus Author ID: 16040195100;
eLibrary SPIN: 7919-2947;
e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Галина Львовна Игнатова, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>;
eLibrary SPIN: 3582-5784;
e-mail: iglign@mail.ru

AUTHORS INFO

* Semen O. Zotov, MD;

address: 64 Vorovskogo St., Chelyabinsk, 454092, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7469-2386>;
e-mail: semenz2007@yandex.ru

Vladimir N. Antonov, MD, Dr. Sci (Med.), Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>;
ResearcherID: F-9640-2017;
Scopus Author ID: 56638963000;
eLibrary SPIN: 5660-2160;
e-mail: ant-vn@yandex.ru

Mikhail V. Osikov, MD, Dr. Sci (Med.), Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6487-9083>;
Scopus Author ID: 16040195100;
eLibrary SPIN: 7919-2947;
e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Galina L. Ignatova, MD, Dr. Sci (Med.), Professor;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>;
eLibrary SPIN: 3582-5784;
e-mail: iglign@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author