

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ ИНФИЦИРОВАННЫХ COVID-19

Гельмич Татьяна¹, Лупашко Юлианна¹, Березовская Елена¹,
Бурда Татьяна², Оуш Мариана²

¹Лаборатория Гастроэнтерологии ГУМФ «Nicolae Testemițanu»

²Республиканская Клиническая Больница IMSP «Timofei Moșneaga»
Кишинев, Республика Молдова, glmtt14@gmail.com

Abstract. The COVID-19 infection causes systemic intravascular coagulopathy, with acute respiratory distress syndrome development and multi-organ failure. Platelets are blood cells that mediate hemostasis and their dysfunction can be manifested by thrombocytopenia, or hyperactivation. SARS-CoV-2 causes platelets' hyperactivation with an inflammatory cytokine releasing with a blood coagulation disorder, followed by acute severe distress syndrome and thrombocytopenia in 55% of patients. There were examined 44 patients divided according BMI: gr. 1 BMI =30-34.9 kg/m², gr. 2, BMI = 35-39.9 gr. 3 BMI >40, group 4 served a control group, consisted from COVID-19 infected patients with a normal weight.

The number of platelets was reduced in 3 gr. - $183 \pm 30 \cdot 10^3/\text{un.l}$, compared to 4 gr. - $238.7 \pm 40 \cdot 10^3/\text{un.l}$ $p \leq 0.001$.

Platelet index PCT was higher in 3 gr. - 0.36 ± 0.03 , $p \leq 0.01$ compared to 4 gr. - 0.27 ± 0.01 (fl).

C-reactive protein level was higher as well in 3 gr. - $48.6 \pm 2.6 \text{ mg/l}$, compared to 4 gr. - $45.3 \pm 8 \text{ mg/l}$, $p \leq 0.001$.

On the background of thrombocytopenia in all evaluated groups, depending on BMI, there was an increase in platelet indexes, PCT and C-reactive protein level.

Key words. Platelets, C-reactive protein, Covid-19, platelet indexes.

Введение

С момента вспышки в декабре 2019 года новой коронавирусной болезни 2019 (COVID-19) официально зарегистрировано 635145 заражённых человек и 12218 летальных исходов во всем мире [14].

Известно, что COVID-19, вызванный коронавирусом (SARS-CoV-2), вызывает респираторное и системное заболевание, которое

может прогрессировать до тяжелой формы пневмонии у 10–15% пациентов [14].

Развитие внутрисосудистой коагулопатии из-за дисрегуляции в системе гемостаза, может привести к тяжелой стадии заболевания COVID-19 с развитием острого респираторного дистресс-синдром с полиорганной недостаточностью [10].

Тромбоциты, небольшие безъядерные клетки крови, являются важным звеном медиаторов гемостаза. Дисфункция тромбоцитов может проявляться как тромбоцитопенией, так и их гиперактивацией. Активированные тромбоциты высвобождают различные иммуномодулирующие цитокины и хемокины, участвующие: в коагуляции, в регуляции иммунного ответа, играют центральную роль в иммунотромбозе – физиологическом процессе, при котором иммунные клетки индуцируют микротромбогенез, чтобы предотвратить распространение патогенов и облегчить их выведение из организма. Важным фактором является способность тромбоцитов напрямую взаимодействовать с вирусными рецепторами SARS-CoV-2 [13].

Вирус SARS-CoV-2, в отличие от других вирусных инфекций, нарушает функциональное состояние эндотелия и иммунных клеток, индуцирует локальную и/или системную гиперактивацию тромбоцитов, с высвобождением воспалительных цитокинов, для генерации цитокинового и тромботического шторма [2].

Выброс цитокинов и тканевых факторов вызывает у 20% пациентов с COVID-19 аномальную гиперкоагуляцию крови, с развитием до 70% – симптомов тяжелого ДВС синдрома и критического состояния [16]. При тяжелом остром респираторном синдроме (ТОРС) выраженная тромбоцитопения была выявлена у 55% пациентов, гипоксемия – в 96,2% случаев.[11].

Современные гематологические анализаторы позволяют определять не только форменные элементы крови, но и тромбоцитарные и эритроцитарные индексы. Тромбоцитарные индексы (ТИ) отражают функциональную активность и морфометрическую характеристику тромбоцитов, интенсивность тромбоцитопозеза и их интегральную агрегационную активность.

Цель нашего исследования: изучить уровень тромбоцитов и показатели ТИ (PDW – относительная ширина распределения тромбоцитов по объему, PCT – тромбокрит (доля тромбоцитов в

общем объеме цельной крови)) у лиц с ожирением в зависимости от индекса массы тела при заболевании COVID-19.

Материалы и методы

Были осмотрены 44 пациента: мужчин 27 (61,62%), женщин 17 (38,8%). Средний возраст $55,16 \pm 4,5$ лет. Пациенты были распределены на 4 группы в зависимости от индекса массы тела: группа 1 (n=9) пациенты с индексом массы тела (ИМТ) = 30-34,9 кг/м², группа 2 (n=8) ИМТ = 35-39,9 кг/м², группа 3 (n=10) пациенты с ИМТ >40 кг/м² и пациенты (n=17) составили 4 контрольную группу, инфицированных COVID-19 больных, с нормальным весом.

Степень ожирения выявляли на основе расчета индекса массы тела (ИМТ): соотношение между весом тела в килограммах и ростом в квадратных метрах (кг/м²).

Проведены лабораторные исследования: С-реактивный белок в сыворотке крови определен иммунотурбодиметрическим методом, общий анализ крови с подсчетом тромбоцитов и тромбоцитарных индексов (ТИ), флуоцитометрическим методом (фл): PCT (0,108-0,282%) – тромбоцитокрит, показывает соотношение объема циркулирующих тромбоцитов к общему объему крови и зависит от числа тромбоцитов и их размеров; PDW (9-16%) – ширина распределения тромбоцитов по объему, отражает степень гетерогенности тромбоцитов.

Диагноз COVID-19 установлен на основе клинических данных и результата ПЦР-обратной транскрипции, компьютерной томографии легких, в соответствии с утвержденным протоколом [3]. Наше исследование представляет собой ретроспективную серию случаев из 44 последовательно госпитализированных пациентов с подтвержденным COVID-19 в Республиканской клинической больнице IMSP «Timofei Moșneaga», Кишинев, Республика Молдова. Анализ медицинских карт пациентов проведен исследовательской группой лаборатории гастроэнтерологии [9].

Работа проводилась в Лаборатории Гастроэнтерологии ГУМФ «Николае Тестемицану» (080401-21), входящей в состав Центра абдоминальной патологии и трансплантации 080401, в рамках проекта «Нутрициональные, метаболические и психосоциальные взаимодействия при жировой болезни печени ассоциированной с метаболическими нарушениями, роль биоэтических принципов в менеджменте пациентов».

Результаты исследований

Отмечается повышение уровня острофазового С-реактивного белка, с максимальным значением в III гр. – $48,6 \pm 2,6$ мг/л, $p \leq 0,001$, во II гр. – $46,6 \pm 3,3$ мг/л, $p \leq 0,001$, в I гр. – $44,4 \pm 9,4$ мг/л, $p \leq 0,001$, по сравнению с контрольной группой – $45,3 \pm 8$ мг/л, $p \leq 0,001$.

Выявлена тенденция к снижению количества тромбоцитов во всех исследуемых группах с наиболее выраженным значением в III гр. – 183 ± 30 10^3 /ед.л. $p \leq 0,001$, во II гр. – 199 ± 16 10^3 /ед.л. $p \leq 0,001$, в I гр. – 282 ± 32 10^3 /ед.л. $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем IV гр. – $238,7 \pm 40$ 10^3 /ед.л. $p \leq 0,001$.

В ходе исследования было выявлено повышение уровня относительной ширины распределения тромбоцитов, максимально высокий по объему в гр. III – $16,38 \pm 0,8$ $p \leq 0,001$, во II гр. – $13,3 \pm 0,5$ $p \leq 0,05$, в I гр. – $13,2 \pm 0,6$ $p \leq 0,001$, по сравнению с контролем – $12 \pm 0,2$ (фл). ТИ РСТ, характеризующий долю тромбоцитов в общем объеме цельной крови, также выявил самые высокие значения в гр. III – $0,36 \pm 0,03$, $p \leq 0,01$, в II гр. – $0,24 \pm 0,02$, $p \leq 0,01$, в I гр. – $0,22 \pm 0,02$, $p \leq 0,05$, по сравнению с контрольной IV группой – $0,27 \pm 0,01$ (фл).

В ходе проведенных нами исследований было выявлена тенденция к увеличению уровня ТИ (ширины распределения тромбоцитов по объему-PDW и тромбоцитокрита-РСТ) на фоне снижения тромбоцитов во всех 3-х исследуемых группах, что, по всей видимости, указывает на реактивное усиление активности процессов тромбоцитопоеза в костном мозге и совпадает также с литературными данными [7].

Снижение общего количества тромбоцитов и увеличение показателей ТИ PDW и РСТ в исследуемых группах, по всей видимости, является результатом компенсаторной, реактивной активации процессов кроветворения и тромбоцитопоеза с наличием молодых форм тромбоцитов в периферическом кровеносном русле, находящихся на разных стадиях созревания и формирования [13]. Güçlü с соавторами в своем исследовании у пациентов с COVID-19, выявил увеличение ТИ – MPV - среднего объема тромбоцитов и показателя PDW и РСТ, как маркеров повышенной функциональной активности тромбоцитов и активации процессов тромбоцитопоеза [5].

Считается, что SARS-CoV-2 проникает через рецепторы в гемопоэтические стволовые клетки и ингибирует образование первичных тромбоцитов. [1] Цитокиновый шторм с помощью

воспалительных цитокинов-IL-6, IL-1 β и TNF- α разрушает гемопоэтические клетки-предшественники в костном мозге со снижением первичной выработки тромбоцитов, что может приводить к тромбоцитопении в периферической крови [1].

Повреждение легочной ткани и эндотелия активирует тромбоциты и их агрегацию, с образованием микротромбов и секвестрации тромбоцитов легкими [2].

Доказано, что повреждение эндотелия и коагулопатии происходят из-за действия Р-селектина, находящегося внутри α -гранул в компонентах тромбоцитов. При воздействии COVID-19, Р-селектин выходит из гранул, тем самым способствуя адгезии тромбоцитов и образованию сигналов, которые активируют местный иммунный ответ [6]. Патологические повышенные уровни Р-селектина активируют лейкоциты, индуцируют экспрессию тканевых факторов ТФ и стимулируют нейтрофилы к образованию нейтрофильных ловушек-NETs, что косвенно способствует гиперкоагуляции тромбоцитов [6].

С-реактивный белок в сыворотке крови (СРБ) – неспецифический белок острой фазы, индуцируемый интерлейкином -6 (IL-6) в печени, чувствительный биомаркер воспаления и повреждения ткани. Повышение уровня СРБ встречается у 75-93% пациентов с COVID-19, при тяжелых формах заболевания в 100% случаев с летальным исходом. Определение уровня СРБ был использован как диагностический критерий для прогнозирования клинического течения и степени тяжести COVID-19 [8].

На основе ряда работ было предположено, что ИМТ тесно связан с тяжестью COVID-19. Так по мере увеличения ИМТ, у пациентов с ожирением, инфицированных COVID-19, возрастали риски госпитализации в отделение интенсивной терапии. Жировая ткань секретирует различные факторы воспаления, такие как лептин, адипонектин, резистин и висфатин, запуская воспалительные реакции. В настоящее время известно, что ожирение, – это хроническое метаболическое заболевание, которое связано с хроническим неинфекционным воспалением, окислительным стрессом и с гормональными нарушениями в организме. Лица с ожирением, как правило, имеют более высокий уровень лептина и более низкий уровень адипонектина по сравнению с лицами с нормальным ИМТ [15]. Макрофаги, как компонент жировой ткани,

секретируют цитокины и хемокины – фактор некроза опухоли (TNF)-альфа, интерлейкин (IL)-6, интерлейкин (IL)-8, интерлейкин (IL)-17 и моноцитарный хемотаксический белок-1, которые активируют иммунную систему и вызывают цитокиновые бури [12].

SARS-CoV-2 – использует ангиотензин превращающий фермент 2 (ACE2) в качестве рецептора инвазии. Домен, связывающий рецептор белка-шипа SARS-CoV-2, взаимодействует с ACE2 для проникновения в клетки. В свою очередь, ACE2 экспрессируется в жировой ткани, и у пациентов с ожирением, инфицированных COVID-19, вероятность развития тяжелых клинических исходов выше, чем у пациентов с нормальным ИМТ [4].

В этой связи представляет интерес изучение тромбоцитарного индекса ширины распределения тромбоцитов (PDW), который отражает изменения размеров тромбоцитов в крови. В состоянии стресса или болезни, размер тромбоцитов может допустимо варьировать от 10 до 20%. Повышение уровня PDW указывает на большую вариабельность размера тромбоцитов, которое может быть вызвано воспалением, анемией или аутоиммунными заболеваниями, и как следствие, дисфункция коагуляции.

С другой стороны тромбоцитарный индекс PCT-тромбоцитокрит также не остаётся не вовлечённым в каскад тромбоцитарных изменений. Доказана связь между значением этого индекса и клиническим течением COVID-19 и при других заболеваниях таких как туберкулез легких, болезнь Крона, ишемическая болезнь сердца, тромбоз глубоких вен, эндотоксемия, гастрит и инфаркт миокарда. На сегодняшний день известно, что низкий уровень PCT может быть предиктором плохого прогноза у пациентов с COVID-19 [5].

Мониторинг уровня тромбоцитов и ТИ во время госпитализации пациентов необходим для прогноза терапевтической эволюции особенно у больных с хроническими заболеваниями печени с повышенной массой тела и коморбидными патологиями инфицированных COVID-19. Простое измерение тромбоцитов, ТИ PDW и PCT, полученное при рутинном полном анализе крови, позволяет легко оценить эти показатели при поступлении в стационар и может быть простым и недорогим предиктором клинического течения COVID-19.

Выводы

1. Во всех исследуемых группах, у пациентов выявлено снижение количества тромбоцитов, но преимущественно в 3 группе больных с ИМТ >40 кг/м².

2. Отмечалась тенденция к повышению значения уровня острофазового С-реактивного белка также во всех группах с максимальным значением в 3 группе больных с наибольшим ИМТ >40 кг/м².

3. Показатели исследуемых тромбоцитарных индексов PDW и PCT увеличивались по мере возрастания индекса массы тела.

4. Тромбоцитарные индексы PDW и PCT могут быть использованы в качестве простых и недорогих предикторов клинического течения COVID-19 у больных с хроническими заболеваниями печени с повышенной массой тела и коморбидными патологиями инфицированных COVID-19.

Библиография

1. Bobirca A., Bobirca F., Ancu I. et al. COVID-19 - a trigger factor for severe immune-mediated thrombocytopenia in active rheumatoid arthritis. *Life* (Basel). 2022; 12(1):77. <https://doi.org/10.3390/life12010077>.

2. Bonaventura A., Vecchié A., Dagna L. et al. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(5):319-29. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00536-9>.

3. Curocichin Gh., Șalaru V., Gîtu L. *Protocolul clinic standardizat pentru medicii de familie. Infecția cu coronavirus de tip nou COVID-19. Pentru aplicare în cazul de sfășurării Scenariului 3 din Planul de pregătire și răspuns, la infecția*. Chișinău, 2023.

4. Furuhashi M, Moniwa N, Takizawa H, Ura N, Shimamoto K. Potential differential effects of renin-angiotensin system inhibitors on SARS-CoV-2 infection and lung injury in COVID-19. *Hypertens Res* 2020; 43:837–40.

5. Güçlü E., Kocayığıt H., Okan H.D. et al. Effect of COVID-19 on platelet count and its indices. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2020; 66(8):1122-7. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.8.1122>.

6. Ivanov I.I., Apta B.H.R., Bonna A.M., Harper M.T. Platelet P-selectin triggers rapid surface exposure of tissue factor in monocytes. *Sci Rep*. 2019; 9(1):13397. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49635-7>

7. Kassir R. Risk of COVID-19 for patients with obesity. *Obes Rev*. 2020; 21(6):e13034. doi: 10.1111/obr.13034.

8. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58(7):1131-1134. doi: 10.1515/cclm-2020-0198.

9. Lupașco I., Tcaciuc E., Dumbrav, V.-T., Venghe, I., Tara, N., Berezovskaia E. *Ghid de conduită a pacienților cu boli cronice difuze hepatice în condiții de pandemie cu Covid-19*. Ediția a II-a. Chișinău: CEP Medicina, 2022; 130 p. ISBN 978-9975-82-243-5.
10. Mattiuzzi C., Lippi G. Which lessons shall we learn from the 2019 novel coronavirus outbreak? *Ann. Transl. Med.*, 8(2020) <http://atm.amegroups.com/post/view/which-lessons-shall-we-learn-from-the-2019-novel-coronavirus-outbreak>.
11. Mellema R.A., Crandel J., Petrey A.C. Platelet dysregulation in the pathobiology of COVID. *Hamostaseologie*. 2022;42(4):221-8. <https://doi.org/10.1055/a-1646-3392>.
12. Picchianti Diamanti A, Rosado MM, Pioli C, Sesti G, Lagana B. Cytokine release syndrome in COVID-19 patients, a new scenario for an old concern: the fragile balance between infections and autoimmunity. *Int J Mol Sci* 2020; 21:3330.
13. Wool GD, Miller JL. The impact of COVID-19 disease on platelets and coagulation. *Pathobiology*. 2021. 88:15-27. <https://doi.org/10.1159/000512007>.
14. World Health Organization. *Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 47* (2020). https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200307-sitrep-47-covid-19.pdf?sfvrsn=27c364a4_2.
15. Yang BM, Wang L, Liu J, Fu et. al. Obesity or increased body mass index and the risk of severe outcomes in patients with COVID-19. *Medicine* 101(1):p e28499, January 07, 2022. | DOI: 10.1097/MD.00000000000028499.
16. Zheng Z, Peng F, Xu B. et al. Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: a systematic literature review and meta-analysis. *J Infect*. 2020; 81(2):e16-e25. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.021.