

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ КРОВИ КАК АЛЬТЕРНАТИВА МЕТОДОВ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Гайдабура Е.А., Золотавина М.Л., Братова А.В.

Кубанский государственный университет

ул. Ставропольская, 149, г. Краснодар, 350040, РФ; e-mail: [gajdabura.alena@mail.ru](mailto:gajdabura.alena@mail.ru)

Поступила в редакцию: 13.07.2021

**Аннотация.** В работе исследовались методы оценки степени поражения лёгочной ткани у больных с диагностированной новой коронавирусной инфекцией. Для этого использовались физические методы – метод компьютерной томографии, а также альтернативные биохимические методы: оптические и иммунологические методы исследования сыворотки крови. Целью исследования стало определение биохимических маркеров воспаления крови: ферритина, фибриногена, СРБ, ПКТ, ИЛ-6, D-димера, лактата в сыворотке крови больных новой коронавирусной инфекцией, как альтернативного способа оценки степени поражения лёгких. В ходе работы нами была исследована сыворотка крови и показания компьютерной томографии 554 пациентов, находящихся на лечении в реанимационном отделении Краевой клинической больницы №1 с диагностированной новой коронавирусной инфекцией. Практическая значимость работы заключается в рекомендации использования иммунологических и оптических методов для определения состояния пациентов, страдающих COVID-19. Для реализации поставленной цели были определены изменения биохимических показателей в сыворотке крови при первой, второй, третьей и четвертой степенях поражения лёгких у людей разного возраста и пола; в ходе работы был проведен корреляционный анализ между биохимическими показателями крови и степенью поражения лёгких, оцененных по показаниям компьютерной томографии, на основании которого нами были сделаны выводы о том, что оптические и иммунологические методы для определения в сыворотке крови показателей ИЛ-6 и ферритина, изменение концентраций которых коррелировало с увеличением процента поражения лёгочной ткани, могут служить альтернативным способом оценки тяжести заболевания и прогнозирования дальнейшего течения COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19, оптические методы, иммунологические методы, метод компьютерной томографии

В декабре 2019 в КНР был зарегистрирован новый штамм коронавирусов – SARS-COV-2, и уже в феврале 2020 года мир охватила волна пандемии COVID-19. Вирус оказался способным проникать в клетки организма, связываясь с клеточными рецепторами – ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ-2) и протеазами, вызывая массовое заражение и гибель клеток, и, как следствие, развитие системного воспаления, в нередких случаях, приводящего к повреждению легких в результате избыточного синтеза цитокинов, полиорганной недостаточности и сепсису что, по данным ВОЗ, в 6,82 % случаев заканчивалось летальным исходом.

К особенностям протекания COVID-19 следует отнести быстрый переход от первой стадии к более тяжелым третьей и четвертой степеням двусторонней пневмонии. Для контроля процесса поражения легочной ткани и раннего прогнозирования развития тяжелой формы течения COVID-19 нами были исследованы методы компьютерной томографии, а также оптические и иммунологические методы определения биохимических показателей сыворотки крови у больных с подтвержденной коронавирусной инфекцией.

В настоящее время метод компьютерной томографии является наиболее часто используемым для оценки процента задействованных в патологическом процессе участков легких. Компьютерная томография позволяет визуализировать участки, пострадавшие в результате возникающего при COVID-19 цитокинового шторма. Однако такой метод исследования является весьма дорогостоящим и при частом применении, которое важно при оценке тяжести больного с новой коронавирусной инфекцией, оказывает негативное влияние на организм человека, а также требует обязательного присутствия пациента.

В связи с этим появилась необходимость поиска альтернативных методов определения процента поражения легких для прогнозирования течения заболевания. Главную роль в воспалительном процессе играют биологические вещества – биохимические маркеры воспаления, выделяемые лимфоидными клетками и запускающими каскад биохимических реакций, отслеживание которых с помощью оптических и иммунологических методов, могло бы указать на степень активности этих воспалительных процессов.

В связи с актуальностью данной темы целью нашего исследования стало определение биохимических методов маркеров воспаления крови как альтернативы методу компьютерной томографии при выявлении степени поражения легочной ткани при новой коронавирусной инфекции.

Контингент исследования был разделен на группы мужчин (М) и женщин (Ж), а также три возрастные группы: М1/Ж1 (от 18 до 44 лет), М2/Ж2 (от 45 до 64 лет) и М3/Ж3 (от 65 до 74 лет), что позволило оценить

Таблица 1. Контингент исследования

| Экс. Группа исследования | КТ легких пациентов с COVID-19 |      |      |      |
|--------------------------|--------------------------------|------|------|------|
|                          | КТ-1                           | КТ-2 | КТ-3 | КТ-4 |
| М1                       | 13                             | 25   | 26   | 18   |
| М2                       | 16                             | 38   | 29   | 22   |
| М3                       | 11                             | 31   | 36   | 31   |
| Ж1                       | 13                             | 19   | 20   | 13   |
| Ж2                       | 14                             | 21   | 28   | 22   |
| Ж3                       | 16                             | 24   | 35   | 29   |

относительную диагностическую значимость выбранных тестов. Также были выделены группы, характеризующиеся по степени поражения лёгких, а именно: КТ1 (до 25% поражения легких), КТ-2 (25-50%), КТ-3 (50-75%), КТ-4 (>75%) (табл. 1).

Для достижения цели работы в качестве предполагаемой альтернативы нами были использованы оптические и иммунологические методы, основанные на взаимодействии исследуемого показателя с мобилизованными специфическими антителами, для определения тяжести протекания заболевания. Использовались оригинальные реагенты иммунохимического анализатора Architect 2000, Advia 1800, а также гематологического анализатора ACL TOP 700.

В результате использования спектрофотометрических и иммунологических методов определения биохимических показателей в сыворотке крови больных COVID-19 была определена концентрация ферритина, которая повышалась в 3,78–6,22 раза в сравнении с физиологической нормой. Значимые отклонения концентрации наблюдались в сыворотках крови групп М3 и М2, в группе М3, равнясь  $448,23 \pm 0,76$  нг/мл что, вероятно могло быть связано с физиологически более высоким уровнем ферритина в крови больных мужского пола. При этом концентрация данного биохимического показателя отклонялась от референсных значений на значительные значения в сыворотках крови больных с поражением лёгочной ткани, соответствующей результатам КТ-3 степени и 4 степени.

Концентрация фибриногена увеличивалась в среднем в 2,1 раз. Повышение, вероятно, было связано с развивающимся на фоне заболевания воспалительным процессом, где данный биохимический показатель являлся белком острой фазы. Наиболее значительные отклонения, выявленные при исследовании крови больных были обнаружены среди сывороток крови с поражением лёгких, соответствующих КТ-3, однако в некоторых группах наблюдалось понижение уровня данного биохимического показателя в 1,5-2 раза, что, вероятно, оказалось следствием референтных методов лечения больных с тяжелым течением COVID-19.

Уровень фибриногена сыворотки крови в группе, соответствующей М3 и Ж3 возрасту, был в 1,3 раза больше и достигал уровня  $5,12 \pm 0,12$  г/л ( $p \leq 0,01$ ). Причиной таких результатов, как мы можем отметить и предположить, был факт возможного высокого риска развития атеросклеротических бляшек и повреждений кровеносных сосудов.

Уровень СРБ повышался в 15,2 раз в группах крови больных группы КТ-1, что возможно связано с началом острофазового ответа организма и, соответственно, отмечался рост уровня белков острой фазы. СРБ является биохимическим маркером воспаления и относится к белкам, играющим важную роль в формировании первой неспецифической защиты организма. В дальнейшем, при КТ-3 и КТ-4 концентрация СРБ в крови больных была повышена в 3,8 раз или оставалась в пределах допустимых значений. Подобная биохимическая картина крови, как мы считаем, была связана с особенностями исследуемого белка, который обладает как провоспалительными свойствами, участвуя в начальной стадии заболевания, так и противовоспалительными свойствами, которые проявляются при увеличении в сыворотке крови других белков острой фазы: фибриногена, ферритина и ИЛ-6.

Часто на фоне протекания инфекционного заболевания новой коронавирусной инфекции развивается сепсис, потому нами была определена концентрация ПКТ, концентрация которого в крови групп КТ1 и КТ-2 не превышала верхнюю границу референсных значений, в то время как в сыворотках крови групп М3 и Ж3 отмечался значительный рост концентрации ПКТ. Концентрация ПКТ продолжительное время оставалась в кровотоке в стабильном состоянии, что позволяет использовать, как удобный маркер патологического состояния организма в лабораторной диагностике системных воспалительных реакций, в том числе COVID-19. Изменение концентрации ПКТ, предположительно, было связано с влиянием цитокинов на процессы образования кальцитонина, то приводило к скоплению его предшественника, усиливающего иммунный ответ организма.

Другим наиболее важным биохимическим показателем в нашем исследовании был выбран ИЛ-6. Данный биохимический маркер синтезируется иммунными клетками в ответ на появление в организме повышенного содержания в крови СРБ. В связи с поздним иммунным ответом, синтез ИЛ-6 происходил, как правило, в больших количествах, вызывая в организме аутоагрессию, направленную не только на поражение клеток, пораженных вирусом, но и на здоровые клетки, вызывая гибель или повреждение стенок альвеол лёгких. При оценке тяжести заболевания COVID-19 с помощью метода КТ наблюдались очаги поражения по типу «матовое стекло». При исследовании иммунологическими методами, было обнаружено, что концентрация ИЛ-6 коррелировала с увеличением процента поражения легочной ткани, что, предположительно, свидетельствовало о развитии в группах с КТ-3 «цитокинового шторма», приводящего к быстрому переходу КТ-3 в степень КТ-4,

являющуюся для организма критической. При этом более высокие показатели были отмечены в сыворотках крови групп мужчин и женщин более старшей возрастной категории, а именно М3 и Ж3.

Повышение концентрации D-димера в сыворотке крови достигало в исследовании  $444,20 \pm 0,12$  нг/мл FEU ( $p \leq 0,05$ ) нг/мл FEU. Концентрация показателя коррелировала с изменениями уровня фибриногена в крови больных. Значительные отклонения в уровне фибриногена наблюдались при поражении лёгочной ткани, соответствующих показателям КТ-3 и КТ-4.

Уровень лактата повышался в 1,3–2,6 раз относительно референсных значений. Изменение концентрации показателей молочной кислоты коррелировало с прогрессированием поражения лёгочной ткани. Повышение концентрации лактата являлось предиктором развития сепсиса и увеличения вероятности смертности.

Зависимость использования оптических методов (спектрофотометрия) от степени поражения легких при COVID-19 (метод компьютерной томографии) была оценена с помощью корреляционного анализа. В сыворотке крови группы мужчин (М1) коэффициент корреляции между концентрацией ферритина в сыворотке крови и КТ составил 0,96, в сыворотке группы М2 – 0,96, в сыворотке крови М3 – 0,97, что в соответствии с критериями оценивания по шкале Чеддока показывало высокую связь и на про слеживающуюся зависимость между результатами использования оптического метода и степенью поражения лёгких по данным КТ.

Для оценки возможности использования иммунологических методов в диагностике и сопровождении течения COVID-19 исследовалась концентрация ИЛ-6 (повышение в 126–981 раз). В сыворотке крови группы женщин (Ж1) коэффициент корреляции между концентрацией ИЛ-6 в сыворотке крови и КТ во всех возрастных группах составлял 0,99.

Исходя из данных отмеченных зависимостей, можно сделать вывод, что оптические и иммунологические методы исследования являются точными, не оказывают влияние на организм человека, и при этом позволяют оценить тяжесть протекания новой коронавирусной инфекции, как альтернатива метода КТ легких. Более того, исследования сыворотки крови больных с COVID-19 с помощью оптических и иммунологических методов не требует обязательного присутствия больного, что является преимуществом данных методов в условиях распространения пандемии.

#### Список литературы / References:

1. Беяков Н.А., Рассомин В.В., Ястребова Е.Б. Коронавирусная инфекция COVID-19. Природа вируса, патогенез, клинические проявления. *Иммунология*, 2020, том 12, № 1, с. 7-21. [Belyakov N.A., Rassomin V.V., Yastrebova E.B. Coronavirus infection COVID-19. The nature of the virus, pathogenesis, clinical manifestations. *Immunology*, 2020, vol. 12, no. 1, pp. 7-21. (In Russ.)]
2. Бородин Е.А. Современные методы клинической лабораторной диагностики при COVID-19. *Лабораторная диагностика*, 2012, № 2, с. 16-22. [Borodin E.A. Modern methods of clinical laboratory diagnostics for COVID-19. *Laboratory diagnostics*, 2012, no. 2, pp. 16-22. (In Russ.)]
3. Войтенков В.Б., Марченко Н.В., Скрипниченко Н.В. и др. Значение инструментальных методов в диагностике пневмонии при коронавирусной инфекции. *Педиатрия*, 2020, № 1, с. 20-25. [Voitenkov V.B., Marchenko N.V., Skripnichenko N.V. et al. The value of instrumental methods in the diagnosis of pneumonia in coronavirus infection. *Pediatrics*, 2020, no. 1, pp. 20-25. (In Russ.)]
4. Котляров П.М., Панышин Г.А., Гваришвили А.А. и др. Компьютерная томография в динамическом мониторинге вирусной пневмонии, ассоциированной с COVID-19 (клиническое наблюдение). *Вестник Российского Научного Центра Рентгенодиагностики*, 2020, том. 20, № 4, с. 90-105. [Kotlyarov P.M., Panshin G.A., Gvarishvili A.A. et al. Computed tomography in dynamic monitoring of viral pneumonia associated with COVID-19 (clinical observation). *Bulletin of the Russian Scientific Center for Roentgenoradiology*, 2020, vol. 20, no. 4, pp. 90-105. (In Russ.)]
5. Иванова В.В., Говорова Л.В., Тихомирова О.В. Особенности биохимических изменений в клетках и плазме крови при COVID-19. *Педиатрия*, 2020, № 9, с. 38-43. [Ivanova V.V., Govorova L.V., Tikhomirova O.V. Features of biochemical changes in cells and blood plasma in COVID-19. *Pediatrics*, 2020, no. 9, pp. 38-43. (In Russ.)]
6. Романова М.А. Методы лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции. *Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии: материалы Международной научной конференции*, 2020, № 2, с. 74-77. [Romanova M.A. Methods for laboratory diagnosis of a new coronavirus infection. *Physics and radio electronics in medicine and ecology: materials of the International scientific conference*, 2020, no. 2, pp. 74-77. (In Russ.)]
7. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А. и др. COVID-19: Этиология, клиника, лечение. *Инфекция и иммунитет*, 2020, том 10, № 3, с. 421-445. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A. and others. COVID-19: Etiology, clinic, treatment. *Infection and immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 421-445. (In Russ.)]
8. Samray, R.S, Zingarelli B., Wong H.R. Role of biomarkers in sepsis care. *Shock*, 2016, no. 40, pp. 58-65. ISBN 1073-2322.
9. Zou L., Ruan F., Huang M. et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.*, 2020, no. 17, pp. 773-775. DOI: 10.1056/NEJMc2001737

**BIOCHEMICAL METHODS OF BLOOD INFLAMMATION MARKERS AS AN ALTERNATIVE TO COMPUTER TOMOGRAPHY METHODS FOR DETERMINING THE DEGREE OF PULMONARY TISSUE DAMAGE IN NEW CORONAVIRUS INFECTION****Gajdabura E.A., Zolotavina M.L., Bratova A.V.**

Kuban State University

*Stavropolskaya str., 149, Krasnodar, 350040, Russia; e-mail: gajdabura.alena@mail.ru*

**Abstract.** In a scientific research work, methods were studied and selected to assess the degree of damage to the lung tissue in patients with a diagnosed new coronavirus infection. For this, physical methods were used – the method of computed tomography, as well as alternative optical and immunological methods for examining blood serum. The aim of the study was to determine biochemical markers of blood inflammation, such as ferritin, fibrinogen, CRP, PCT, IL-6, lactate, in the blood serum of patients with new coronavirus infection as an alternative way to assess the degree of lung damage. In the course of our work, we examined the blood serum and computed tomography readings of 554 patients in the intensive care unit of the Research Institute - Regional Clinical Hospital No. 1 "diagnosed with a new coronavirus infection. The practical significance of the research work lies in the recommendation of the use of immunological and optical methods to study the condition of patients with COVID-19. To achieve this goal, changes in biochemical parameters in blood serum were determined at the first, second, third and fourth degrees of lung damage in people of different ages and sex; In the course of the work, a correlation analysis was carried out between the biochemical parameters of blood and the degree of lung damage, assessed according to the indications of computed tomography, on the basis of which we concluded that optical and immunological methods for the determination of IL-6 and ferritin in blood serum, a change concentrations of which correlated with an increase in the percentage of lung tissue damage, can serve as an alternative way to assess the severity of the disease and predict the further course of COVID-19.

**Key words:** *COVID-19, optical methods, immunological methods, computed tomography method.*