

**АВТОНОМНАЯ НАУЧНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ  
ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ НАУЧНО-  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ  
ИНСТИТУТ БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ»**



*На правах рукописи*

**ВОЕЙКОВА**

**Анна Владимировна**

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У ЛЮДЕЙ ПРИ COVID-19**

**14.01.30 – геронтология и гериатрия**

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Научный руководитель:**  
Член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук,  
профессор  
Иванов Андрей Михайлович

**Санкт-Петербург – 2023**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Коронавирусная инфекция, патогенез, клинические проявления, маркеры заболевания, возрастные и гендерные особенности течения SARS-CoV-2.....	15
1.2. ИНТЕРЛЕЙКИН-6.....	20
1.3. ФЕРРИТИН.....	26
1.4. ТРОПОНИН.....	32
1.5. ПРОКАЛЬЦИТОНИН.....	37
1.6. С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК.....	45
1.7. МОЗГОВОЙ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД.....	48
1.8. D-ДИМЕР.....	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	57
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	58
2.1. Характеристика лиц, включенных в проспективное исследование..	58
2.2. Лабораторные методы исследования.....	60
2.3. Статистическая обработка данных.....	65
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	67
3.1. Возрастные изменения иммунобиохимических показателей в группах среднего, пожилого и старческого возрастов при сравнении благоприятного и неблагоприятного исходов.....	67
3.2. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах по гендерному признаку.....	67
3.3. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах среди мужчин при благоприятном и неблагоприятном исходах.....	68
3.4. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах среди женщин при благоприятном и неблагоприятном исходах.....	69
3.5. Летальный исход в разных возрастных группах у мужчин и женщин.....	69
3.6. Оценка уровня ферритина в разных возрастных группах при сравнении разных исходов заболевания.....	70

3.7. Сравнение показателей С-реактивного белка у лиц разных возрастных групп при благоприятном и летальном исходах .....	73
3.8. Анализ полученных данных интерлейкина-6 у лиц средней, пожилой и старческой группах при различных исходах .....	75
3.9. Оценка уровня D-димера в разных возрастных группах при благоприятном и неблагоприятном исходах.....	82
4.0. Сравнение показателей прокальцитонина в разных возрастных группах при благоприятном и летальном исходах.....	85
4.1. Исследование показателей мозгового натрийуретического пептида пр благоприятном и неблагоприятном исходах в разных возрастных группах .....	86
4.2. Оценка и сравнение уровней тропонина у лиц средней, пожилой и старческой групп при разных исходах заболевания.....	88
5. Разработка алгоритма применения лабораторных предикторов для прогнозирования исходов у лиц среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19.....	91
5.1. ROC-кривые чувствительности и специфичности прогностических факторов у лиц разных возрастных групп с COVID-19.....	91
5.2. Факторы, вошедшие в модель регрессии и влияющие на развитие неблагоприятного исхода заболевания у разных возрастных групп .....	94
ВЫВОДЫ .....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

С декабря 2019 г. регистрируется пандемия нового инфекционного заболевания COVID-19 [Huang C.et al.2020]. Новая коронавирусная инфекция была зафиксирована более чем в 250 странах мира и инфицированию подверглось более 680 млн человек [COVID-19 Coronavirus pandemic. [<https://www.worldometers.info/coronavirus> (3 mart 2023)]. По статистике, 80% людей, перенесших это заболевание в легкой форме, а 20% – в тяжелой [Кузник Б.И., Хавинсон В.Х. 2020]. Наибольшее число умерших от коронавирусной инфекции – это люди, перешагнувшие 60-летний рубеж [Gao Y.D.et al.2021]. Также около 80% летальных исходов приходится на людей пожилого возраста. Эта закономерность может быть связана с такими патогенетическими механизмами, как снижение иммунитета, а также наличием ряда сопутствующих заболеваний, характерных для данной группы людей [Lu C.C.et al.2020]. Значимость особой роли лабораторных показателей была продемонстрирована в многочисленных (17 версий) методических рекомендациях, посвященных диагностике и лечению COVID-19. В первых версиях отображены только общие лабораторные исследования, рекомендованные для определения степени тяжести заболевших людей (выполнение общего (клинического) анализа крови с определением уровня эритроцитов, гематокрита, лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарной формулы; биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, электролиты, печеночные ферменты, билирубин, глюкоза, альбумин; исследование уровня С-реактивного белка (CRP) в сыворотке крови; пациентам с признаками ОДН рекомендуется выполнение коагулограммы с определением протромбинового времени, международного нормализованного отношения и активированного частичного тромбопластинового времени). В пятой версии методических рекомендаций мы видим расширение перечня иммунобиохимических показателей, необходимых для установки быстрого и

точного диагноза и адекватного лечения (лактатдегидрогеназа, сердечный тропонин I, ферритин), также впервые было рекомендовано определение D-димера. В седьмой версии рекомендаций перечень был расширен до определения мозгового натрийуретического пептида (BNP), сердечного тропонина I, прокальцитонина. В этой версии рекомендаций впервые появляется пункт об особенностях клинических проявлений у людей пожилого и старческого возраста. Здесь же было установлена периодичность мониторинга динамики этих показателей в зависимости от тяжести протекания коронавирусной инфекции. В десятой версии рекомендаций были добавлены показатели иммунной напряженности (интерлейкин-6, интерлейкин-10 и др.).

С целью оценки степени тяжести и прогноза развития заболевания были созданы специальные шкалы для COVID-19: NEWS2 (National Early Warning Score 2), 4C (Coronavirus Clinical Characterisation Consortium) Mortality Score, COVID-GRAM, CURB-65 (Confusion, Urea, Respiratory rate, Blood pressure), BCRSS (Brescia-COVID Respiratory Severity Scale). В России также разработаны оценочные инструменты — ШОКС-КОВИД [Мареев В. Ю., Беграмбекова Ю. Л., Мареев Ю. В. 2020] и Шкала оценки тяжести состояния для пациентов с COVID-19 [Шкала оценки тяжести состояния для пациентов с COVID-19. 12 October 2021]. Многие международные исследователи работали над созданием наиболее полных прогностических систем для пациентов с COVID-19, но не всегда они отображают точную оценку [Benjamin G.M. et al.2021; Greenhalgh T. et al.2020; COVID-19 Coronavirus pandemic. (12 October 2021).], что, вероятно, связано с отсутствием в некоторых из них учета возраста и коморбидности пациентов [Временные методические рекомендации “Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)”. Версия13 (14.10.2021).]. При этом чувствительность и специфичность многих шкал зависела как раз от возраста заболевших людей. В некоторых последних

работах пожилой возраст напрямую соотносят с факторами риска при осложненной инфекции [Lee J.Y., et al.2020, Chen L.et al.2020].

При чрезмерном иммунном ответе, которое ведет к генерализованному воспалению, идет повышение концентрации факторов воспаления: С-реактивного белка (CRP), ферритина (Ferr), прокальцитонина (Pct), D-димера, интерлейкина-1(И-1) и интерлейкина-6 (И-6), мозгового натрийуретического пептида (BNP). Использование статистических методов анализа показало, что предикторами неблагоприятного исхода у людей с COVID-19 являются: тромбоцитопения, лимфопения, повышенные уровни маркеров воспаления, лихорадка [Huang I., et al.2020; Choron R.L. et al.2021].

Кроме полиморбидности и старческой астении на неблагоприятный исход у людей старшей возрастной категории оказывает наличие фоновых хронических воспалений [Кузник Б.И., Хавинсон В.Х.2020; Ganz T, Nemeth E.2009]. В настоящее время продолжается анализ полученных данных в период новой коронавирусной инфекции и активно исследуется роль иммунобиохимических показателей в прогнозировании течения и уровня летальности заболевших людей старших возрастных групп.

Внедрение алгоритмов прогнозирования исходов заболевания (благоприятного и неблагоприятного), у разных групп людей, особенно пожилого и старческого возраста, очень актуально. Среди наиболее точных лабораторных предикторов рассматриваются иммунобиохимические показатели крови. Остается важным уточнение изменений этих показателей у людей данных возрастных групп с COVID-19 и их использование в качестве предикторов различных исходов заболевания.

### **Цель исследования**

Оценить ценность лабораторных показателей при диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и определить достоверно

информативные предикторы исхода заболевания у лиц разных возрастных групп.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать уровень маркеров воспаления: ферритина, С-реактивного белка, интерлейкина-6 в крови мужчин и женщин разных возрастных групп с COVID-19 для выявления связи с исходом заболевания.
2. Проанализировать значения уровня D-димера в крови мужчин и женщин разных возрастных групп с подтвержденным диагнозом COVID-19.
3. Изучить роль уровня содержания прокальцитонина в крови и перспективность его применения для определения тяжести состояния мужчин и женщин среднего, пожилого и старческого возраста с COVID-19.
4. Оценить возможность применения методики определения мозгового натрийуретического пептида и сердечного тропонина-I для стратификации тяжести заболевания у мужчин и женщин разных возрастных групп при COVID-19.
5. Разработать алгоритм применения лабораторных предикторов для прогнозирования исходов заболевания у лиц среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19 с применением регрессионного анализа.

### **Научная новизна исследования**

Впервые была определена роль и значение особенностей лабораторных показателей крови: ферритина, D-димера, С-реактивного белка, интерлейкина-6, прокальцитонина, мозгового натрийуретического пептида, сердечного тропонина-I при мониторинге биологических проб людей с COVID-19 в средней, пожилой и старческой возрастных группах.

Было показано, что уровень интерлейкина – 6 выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 57,7% ( $p=0.019$ ) и пожилого возраста на 46,8% ( $p<0.001$ ) соответственно, однако у лиц старческого возраста уровень интерлейкина – 6 выше у женщин, чем у мужчин на 71,1% ( $p<0.001$ ). Уровень интерлейкина – 6 при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 94,5% ( $p<0.001$ ), чем при благоприятном исходе; у лиц пожилого возраста на 92,5% ( $p<0.001$ ), у лиц старческого возраста на 83,6% ( $p<0.001$ ).

Доказано, что уровень ферритина выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 76,5% ( $p<0.001$ ) и пожилого возраста на 56,3% ( $p<0.001$ ) соответственно. Уровень ферритина при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 85,9% ( $p<0.001$ ), у лиц пожилого возраста на 84,3% ( $p<0.001$ ), у лиц старческого возраста на 39,9% ( $p<0.001$ ), чем при благоприятном исходе.

Показано, что уровень тропонина I выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 31,5% ( $p<0.001$ ). Уровень тропонина при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 93,7% ( $p<0.001$ ) по сравнению со значениями при благоприятном исходе заболевания, у лиц пожилого возраста на 93,4% ( $p<0.001$ ), у лиц старческого возраста на 90,1% ( $p<0.001$ ) соответственно.

Впервые было показано, что уровень прокальцитонина выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 60,0% ( $p<0.001$ ) и пожилого возраста на 16,7% ( $p=0.030$ ) соответственно. Уровень прокальцитонина при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 96,3% ( $p<0.001$ ) по сравнению с благоприятным исходом, у лиц пожилого возраста на 86,8% ( $p<0.001$ ), у лиц старческого возраста на 82,5% ( $p<0.001$ ), соответственно.



Было определено, что уровень BNP повышается у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 46,7% ( $p < 0.001$ ). Уровень BNP при неблагоприятном исходе у лиц среднего возраста выше на 50% ( $p < 0.001$ ); у лиц пожилого возраста на 75.6% ( $p = 0.004$ ), у лиц старческого возраста на 65.0% ( $p < 0.001$ ) по сравнению с благоприятным исходом.

Было установлено, что у лиц среднего возраста уровень С-реактивного белка выше у мужчин по сравнению с женщинами на 44,4% ( $p < 0.001$ ), у лиц пожилого возраста на 62,0% ( $p < 0.001$ ), старческого возраста на 45,8% ( $p = 0.002$ ), соответственно. Уровень С-реактивного белка при неблагоприятном исходе выше по сравнению со значениями этого предиктора при благоприятном исходе у лиц среднего возраста на 98,5% ( $p < 0.001$ ), у лиц пожилого возраста на 93,4% ( $p < 0.001$ ) и у лиц старческого возраста на 70,3% ( $p < 0.001$ ).

Было показано, что уровень D-димера при неблагоприятном исходе выше по сравнению со значениями этого показателя при благоприятном исходе у лиц среднего возраста на 38,5% ( $p = 0.044$ ), у лиц пожилого возраста на 36,1% ( $p = 0.022$ ) и у лиц старческого возраста на 38,0% ( $p < 0.001$ ).

Обнаружено, что у людей среднего возраста в качестве дополнительного предиктора неблагоприятного исхода при коронавирусной инфекции может выступать интерлейкин-6 и прокальцитонин, у людей пожилого возраста дополнительными предикторами неблагоприятного исхода может выступать сердечный тропонин I, прокальцитонин и С-реактивный белок; для группы людей старческого возраста при использовании модели по прогнозированию неблагоприятного исхода такими предикторами стали интерлейкин-6 и сердечный тропонин I.

### **Научно-практическая значимость работы**

Оценка концентрации факторов воспаления в зависимости от возраста выявила однозначную восходящую тенденцию при летальном исходе

заболевания, что было характерно для следующих показателей: интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин-I, D-димер. Сравнительная оценка уровня таких показателей, как ферритин, С-реактивный белок, интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин-I, D-димер, продемонстрировала статистически значимые различия в зависимости от исхода заболевания у всех возрастных групп. При проведении корреляционного анализа с использованием точно-биссерийного коэффициента между неблагоприятным исходом и биохимическими показателями у лиц средней возрастной группы (34-59 лет) были получены слабые, но статистически значимые корреляционные связи с Ил-6 ( $r=0,111$  при  $p=0,006$ ), Ferr ( $r=0,239$  при  $p<0,001$ ), BNP ( $r=0,107$  при  $p=0,009$ ) и умеренные, но статистически значимые корреляционные связи с TnI ( $r=0,585$  при  $p<0,001$ ), Pct ( $r=0,379$  при  $p<0,001$ ), CRP ( $r=0,621$ , при  $p <0,001$ ). У лиц 60-74 лет были получены умеренные, но статистически значимые корреляционные связи с Ил-6 ( $r=0,378$  при  $p<0,001$ ), Ferr ( $r=0,320$  при  $p=0,001$ ), TnI ( $r=0,454$  при  $p<0,001$ ), Pct ( $r=0,470$  при  $p<0,001$ ), BNP ( $r=0,288$  при  $p=0,003$ ), CRP ( $r=0,410$ , при  $p <0,001$ ). У людей старше 75 лет были получены умеренные, но статистически значимые корреляционные связи с Ил-6 ( $r=0,355$  при  $p=0,005$ ), TnI ( $r=0,552$  при  $p<0,001$ ), Pct ( $r=0,579$  при  $p<0,001$ ), BNP ( $r=0,344$  при  $p=0,006$ ), CRP ( $r=0,381$ , при  $p=0,003$ )

На основе исследования дополнительных иммунобиохимических показателей возможно своевременно скорректировать лечебную тактику, что, в свою очередь, улучшит вероятный исход у людей среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19 и позволит уменьшить риск летальных исходов.

Наблюдаемые изменения иммунобиохимических показателей, таких, как С-реактивный белок, ферритин, интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин-I у лиц среднего,

пожилого и старческого возраста при госпитализации дают возможность понять некоторые особенности ответа организма на острое состояние. Данные, полученные при первичном обследовании этих групп людей, легли в основу разработанного алгоритма прогнозирования риска развития неблагоприятного исхода при COVID-19 у людей среднего, пожилого и старческого возраста на основе анализа связей между несколькими независимыми переменными.

На основе этих исследований создана база данных для стратификации уровня факторов воспаления у лиц среднего и пожилого возраста с диагнозом COVID-19, которая дает возможность проводить сравнение лабораторных показателей в крови человека со средними значениями соответствующей возрастной группы (свидетельства №№ 2022623320, 2022681724).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Уровень интерлейкина-6, ферритина, тропонина-I, прокальцитонина, мозгового натрийуретического пептида, С-реактивного белка и D-димера статистически значимо выше при неблагоприятном исходе у лиц среднего, пожилого и старческого возраста.

2. При сравнении по гендерному признаку уровень интерлейкина-6, ферритина, тропонина I, прокальцитонина, мозгового натрийуретического пептида и С-реактивного белка статистически значимо выше у лиц мужского пола при COVID-19 в группе среднего возраста. У мужчин пожилого возраста статистически значимо выше такие показатели, как: интерлейкин-6, ферритин, прокальцитонин и С-реактивный белок. В тоже время у женщин старческого возраста статистически значимо выше интерлейкин-6 и С-реактивный белок.

3. Полученные результаты лабораторных показателей демонстрируют прогностическую ценность при создании математической модели

по прогнозированию неблагоприятного исхода при COVID-19 всех исследуемых возрастных групп. Так, согласно полученной модели, прогностическую ценность у лиц среднего возраста имеют: интерлейкин-6, прокальцитонин; у лиц пожилого возраста: тропонин I, прокальцитонин, С-реактивный белок; у людей старшей возрастной категории такими прогностическими показателями оказались интерлейкин-6 и тропонин I.

### **Соответствие диссертации заявленной специальности**

Диссертация «Возрастные особенности лабораторных показателей крови у людей при COVID-19» соответствует паспорту специальности 3.1.31. Геронтология и гериатрия: пункту 3 - Изучение морфологических и функциональных возрастных особенностей органов и систем, роли различных факторов в развитии старческих изменений в организме и механизмов формирования возрастассоциированных заболеваний и гериатрических синдромов. 5 - Изучение этиологии, патогенеза и патоморфологии, особенностей клинических проявлений, методов диагностики и дифференциальной диагностики болезней в пожилом и старческом возрасте с учетом возрастных изменений органов и систем организма человека, гериатрических синдромов. Совершенствование методов клинической, лабораторной и инструментальной диагностики болезней в пожилом и старческом возрасте.

### **Публикации по теме диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ в отечественных журналах, включая 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

## **Связь с научно-исследовательской работой института**

Диссертационная работа проведена по теме, входящей в основной план научно-исследовательской работы Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

## **Степень достоверности и апробация результатов диссертации**

Достоверность результатов исследований основана на анализе литературных источников, посвященных данной проблеме, достаточной выборкой лиц ( $n=1464$ ) и высокой статистической значимостью полученных данных. Выделенные группы лиц были статистически достоверны по количеству для решения поставленной цели и задач.

## **Внедрение результатов исследования в практику**

Выявлены изменения показателей ферритина, С-реактивного белка, D-димера, интерлейкина-6, прокальцитонина, сердечного тропонина-I, натрийуретического пептида при госпитализации, которые явились основой для разработки алгоритма риска развития неблагоприятного исхода у лиц пожилого и старческого возраста при COVID-19 на основе анализа связей между несколькими независимыми переменными (логистической регрессии).

На основе полученных данных создана база для стратификации иммунобиохимических показателей анализа крови людей среднего и пожилого возраста с подтвержденным COVID-19, которая позволяет проводить сравнение этих показателей заболевшего человека со средними значениями в данной возрастной группе.

Полученные результаты работы внедрены в лечебно-диагностическую практику отделений Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2», научно-исследовательскую работу лаборатории возрастной клинической

патологии отдела клинической геронтологии и гериатрии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Оформлено 2 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

### **Личный вклад автора**

Автором лично определены цель и задачи исследования, проанализирована отечественная и зарубежная литература по изучаемой проблеме, разработаны методические подходы к проведению исследования. Автор непосредственно производила сбор данных, обработку и обобщение полученных материалов, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, библиографического указателя литературы, содержащего ссылки на 140 работ, из них на русском языке –16, на английском –124. Работа иллюстрирована 7 рисунками и 6 таблицами.

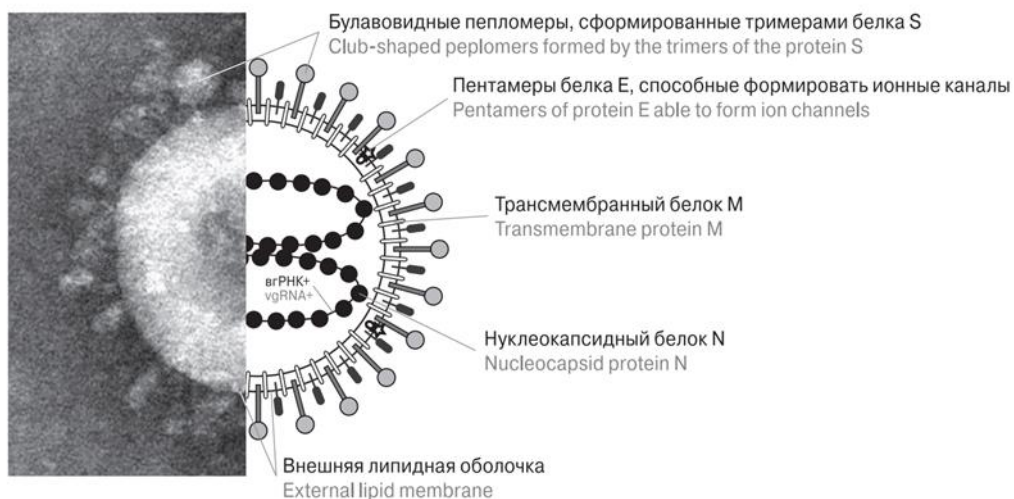
## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Коронавирусная инфекция, патогенез, клинические проявления, маркеры заболевания, возрастные и гендерные особенности течения SARS-CoV-2

К концу 2019 г. в семействе Coronaviridae насчитывалось около 40 видов, 6 из них - вирусы человека. В декабре того же года в городе Ухань в Китае началась эпидемия COVID-19 (Coronavirus disease 2019 — коронавирусное заболевание 2019 г.), ассоциированной с вирусом 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus) [Щелканов М.Ю.и др., 2020], [World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report 1 (21 January 2020)], которая была определена, как источник седьмого коронавируса человека, объявленная затем в мире пандемией [Щелканов М.Ю. и др.2020]. Это был первый официально зарегистрированный случай пневмонии неясной этиологии на территории КНР с последующей идентификацией возбудителя [Chen N., Zhou M.et al.,2020].

К началу 2020 г. появилось много фактов, подтверждающих роль 2019-nCoV в возникновении эпидемии в Китае и это было зафиксировано в официальном сообщении ВОЗ [World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 1 (21 January 2020)].

Определив генетическое сходство данного вируса с SARS-CoV Международный Комитет по таксономии вирусов (ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses) дал новое название 2019-nCoV - вирус острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome-related virus 2), выделив подрод Sarbecovirus для данных вирусов [Gorbalenya A.E.et al.,2020]



**Рисунок 1.** Строение вириона.

Округлая (90–140 нм) плейоморфная вирусная частица [Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T., 2020], которая имеет липидную оболочку, состоящую из мембран эндоплазматического ретикулума клетки-хозяина. Три трансмембранные белковые структуры погружены в липидную оболочку: тримеры гликозилированного белка S (1273 аа, 141,0 кДа), образующие характерные булавовидные пепломеры (9-12 нм); пентамеры белка E (75 аа, 8,2 кДа), представленные в незначительных количествах (около 20 копий на вирион); самый объемный гликозилированный белок S (1273 аа, 141,0 кДа), образующие булавовидные пепломеры (9-12 нм) Белок M (222 аа, 25,0 кДа) с тройным проходом входит в структуру вириона. Нуклеокапсид (70 нм) содержит спиральную симметрию и состоит из фосфорилированного белка N (409 аа, 45,5 кДа), который нековалентно связан с одним сегментом вирион-геномной РНК положительной полярности (бгРНК +) (29, 903 нтл) [Chen T. et al, 2020].

Попасть вирусной частице в клетку-мишень помогают рецепторы на поверхности и сериновая протеаза TMPRSS2, имеющиеся на клетках тканей органов человека. Оба рецептора для SARS-CoV-2 (ACE2 и CD147) и TMPRSS2 имеются на эпителии респираторного тракта и ЖКТ, поэтому начало заболевания и начинается именно в этих локализациях [Министерство



здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации (версия от 08.04.2020)], [Никифоров В.В. и др.,2020].

Вирус поражает клетки альвеолярно-капиллярной мембраны, попадает в кровь и в дальнейшем проникает в те органы, клетки которых имеют ACE2 и / или CD147: пищевод, кишечник, почки, мочевого пузыря, яички, сердце, сосуды, мозг. Вирус идентифицируется в эпителиальных клетках пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки и прямой кишки у лиц с симптомами диареи и гастроэнтерита [Adao R.,2020].

Показано, что коронавирус размножается в почечных канальцах, что приводит к острой почечной недостаточности [Chen T.et al,2020].

В результате прямого повреждения кардиомиоцитов и эндотелия крупных сосудов на фоне дыхательной недостаточности и системного воспаления возможно развитие острой сердечной недостаточности [Lin L.et al.,2020].

SARS-CoV-2 может попадать в мозг разными способами (вдоль обонятельного нерва; путем заражения эндотелиоцитов гематоэнцефалического барьера; путем использования повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера из-за «цитокинового шторма»), что приводит к развитию геморрагической некротической энцефалопатии [Caly L.et al., 2020].

При COVID-19 определяются следующие клинические варианты [Министерство здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации (версия от 08.04.2020) 2020.]:

- ОРЗ с поражением только верхних дыхательных путей;

- Пневмония без ОДН;
- Пневмония с уменьшением IN и SpO<sub>2</sub> <88 % (более 30% пациентов);
- ОРДС (3-4% пациентов);
- Сепсис;
- Септический (инфекционный) шок.

Степень тяжести коронавирусной инфекции различается между легкой (80,9%), средней (13,8%) и тяжелой (5,3%). Более 50% заболевших - это люди в возрасте до 45 лет, 34% - в возрасте от 46 до 65 лет, 4,7% - дети.

Тяжесть течения COVID-19 может зависеть от сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, в т.ч. артериальной гипертензии; заболевания легких (ХОБЛ, бронхиальной астмы); эндокринных нарушений; сахарного диабета; иммунодефицита; злокачественных новообразований; медикаментозной иммуносупрессии, ВИЧ-инфекции; пожилого возраста.

Начало заболевания похоже на ОРЗ, характеризуется общим инфекционным синдромом и отсутствием симптомов, характерных для COVID-19. На первичной стадии заболевания фиксируется чаще всего недомогание, температура субфебрильных значений, першение в горле, возможен сухой кашель, иногда – боли в мышцах и суставах, отмечается головная боль и боль в глазных яблоках.

Маркерами тяжелого заболевания являются сдвиги параметров острой фазы: С- реактивного белка, прокальцитонина, ферритина, церулоплазмина; в коагулопатии – значения D-димера, МНО, АПТВ, тромбопластина, протромбина; таких ферментов, как: ЛДГ, КФК, АЛТ, АСТ и других лабораторных показателей, которые указывают на развитие СПН. Периферическая кровь характеризуется лейкопенией, которая чаще всего (82%) представлена лимфопенией и тромбоцитопенией (36%) [Liang T., 2020].

Было обнаружено, что COVID-19 чаще заболевают мужчины, чем женщины, и летальность в каждой возрастной группе соответственно больше у мужчин. Было высказано предположение, что половые гормоны могут играть значительную роль в патогенезе COVID-19. Отмечается, что возрастное снижение уровня эстрогена и тестостерона может быть основным фактором, способствующим развитию тяжелого течения COVID-19 [Al-Lami R. A. et al., 2020].

Вероятно, не только возраст и сопутствующие заболевания, но и лейкоцитоз, лимфоцитопения, повышенный уровень АЛТ, D-димера, креатинкиназы, сердечного тропонина I и сывороточного ферритина являются наиболее важными показателями, увеличивающими риск летального исхода при COVID-19 [Zhou F. et al., 2020].

Многие авторы согласны с тем, что наиболее распространенными осложнениями при COVID-19 являются тромботическая микроангиопатия, иммунный тромбоз и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови у людей пожилой и старческой групп.

Считается, что предрасполагающими факторами развития поражений в системе гемостаза, особенно у лиц с сердечно-сосудистой патологией, могут быть процессы чрезмерной иммунной активации, в частности, гиперсекреция TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 и многие хемокины. На более поздней стадии инфекции происходит нарастание интерферонов I типа, что способствует нарастанию иммунной активации [Liu P. P et al., 2020].

Создание алгоритмов прогнозирования летального исхода при COVID-19 у людей пожилого и старческого возраста представляет собой актуальную геронтологическую тему. К прогностическим предикторам можно отнести такие иммунобиохимические показатели крови, как ферритин, С-реактивный белок, интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин-I, D-димер. Остается важным уточнение изменений

этих показателей у людей данных возрастных групп с COVID-19 и их использование в качестве предикторов различных исходов заболевания.

## 1.2. ИНТЕРЛЕЙКИН-6

Интерлейкин-6 (IL-6) является одним из провоспалительных цитокинов [Kishimoto T. 2005]. IL-6 является растворимым медиатором с плеiotропным действием на воспаление, иммунный ответ и кроветворение, а его выработка происходит в результате развития инфекции и повреждения тканей и способствует защите организма-хозяина [Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. 2014].

В связи с разнообразной биологической активностью IL-6 изначально воспринимали за разные вещества в соответствии с оказываемыми им эффектами. IL-6 был впервые обнаружен и клонирован в качестве фактора, стимулирующего В-клетки (BSF-2). Это было обусловлено способностью IL-6 индуцировать дифференцировку активированных В-клеток в плазматические клетки, продуцирующие антитела [Hirano T. et al.1989]. Название гепатоцитарный стимулирующий фактор (HSF) было основано на эффекте IL-6 индуцировать синтез белков острой фазы гепатоцитами. Фактором роста гибридомы (HGF) IL-6 был назван в связи с усилением роста клеток слияния между плазматическими клетками и клетками миеломы под его воздействием. Интерфероном- $\beta$ 2 (IFN- $\beta$ 2) он был назван благодаря противовирусной активности. С помощью молекулярного клонирования было показано, что молекулы с разными названиями на самом деле были идентичны, что позволило объединить их под названием IL-6 [Brakenhoff JP. et al. 1987]. Человеческий IL-6 – это белок, который состоит из 212 аминокислот. [Zhang Q. et al.2010].

Позже было выявлено, что IL-6 проявляет высокую активность в головном мозге, участвует в регуляции обмена веществ [Findeisen M. et al .2019], в реакции организма на физические нагрузки, а также в инициации и развитии различных видов рака [Schmidt S. et al. 2018].

IL-6 функционирует как медиатор, вызывая эффекторный ответ организма хозяина на инфекционные заболевания и повреждение собственных клеток и тканей. Патоген ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs) при инфицировании распознаются рецепторами, которые находятся на поверхности иммунокомпетентных клеток (PPR). Эти PRR включают Toll-подобные рецепторы (TLR), NOD-подобные, RIG-подобные рецепторы и ДНК-рецепторы. Под их контролем происходит стимуляция ряда сигнальных путей, включая NF-κB, и усиление транскрипции мРНК воспалительных цитокинов, таких как IL-6, фактор некроза опухоли (TNF)-α и IL-1β. При этом TNF-α и IL-1β также активируют факторы транскрипции для секреции IL-6 [Kumar H, Kawai T, Akira S. 2011]. Стимуляция выработки IL-6 также происходит в случае повреждения тканей. Молекулярные структуры, связанные с повреждением (DAMPs), которые выделяются из поврежденных или умирающих клеток при инфекционных и неинфекционных нарушениях, таких как ожог или травма, прямо или косвенно способствуют развитию воспаления [Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. 2014]. В дополнение к иммунным клеткам фибробласты, мезенхимальные, эндотелиальные и многие другие клетки участвуют в выработке IL-6 в ответ на различные стимулы [Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. 2014].

На начальной стадии воспаления происходит индукция синтеза IL-6 в локальном очаге поражения, далее через кровотоки он попадает в печень, где происходит быстрая стимуляция выработки широкого спектра белков острой фазы, таких как С-реактивный белок (CRP), сывороточный амилоид А (SAA), фибриноген, гаптоглобин и α1-антихимотрипсин [Heinrich P.C., Castell J.V., Andus T. 1990].

IL-6 участвует в регуляции уровней сывороточного железа и цинка посредством контроля их переносчиков. IL-6 индуцирует выработку

гепсидина, который блокирует действие ферропортина 1 (переносчика железа в кишечнике) и, таким образом, отвечает за гипоферремию и анемию, связанные с хроническим воспалением [Nemeth E. et al.2004]. IL-6 также усиливает экспрессию импортера цинка ZIP14 на гепатоцитах, приводя к гипоцинцемии, наблюдаемой при воспалении [Liuzzi JP.et al.2005].

Достигая костного мозга, IL-6 способствует созреванию мегакариоцитов, что приводит к высвобождению тромбоцитов [Ishibashi T.et al.1989].

IL-6 способствует специфической дифференцировке наивных CD4+ Т-клеток, выполняя важную связующую роль во врожденном и приобретенном иммунном ответе. IL-6 необходим для дифференцировки наивных CD4+ Т-клеток в Т-хелперы 17 (Th17), а также ингибирует индуцированную трансформирующим фактором роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) дифференцировку Treg-клеток [Bettelli E.et al.2006]. Считается, что изменение баланса Th17 / Treg приводит к нарушению иммунологической толерантности и, таким образом, участвует в патогенезе аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний [Kimura A, Kishimoto T.2010].

IL-6 также индуцирует избыточную продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), приводя к усиленному ангиогенезу и повышенной проницаемости сосудов [Nakahara H.et al.2003]. IL-6 вызывает повреждение эндотелия сосудов как через разборку VE-кадгерина, так и через повышенную экспрессию рецептора C5a на эндотелиальных клетках сосудов, что также приводит к увеличению их проницаемости.

IL-6 запускает активацию каскада свертывания крови путем усиления регуляции тканевых факторов на моноцитах, тем самым способствуя активации тромбина и ускоряя образование фибринового сгустка. В стимуляции каскада свертывания принимают участие и эндотелиальные клетки, которые при активации комплексом IL-6-sIL-6R выделяют такие

медиаторы, как IL-6, IL-8 и MCP-1, рекрутируя иммунные клетки и ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) [Kang S.et al.2020].

Плейотропные эффекты IL-6 на клетки-мишени обусловлены тремя различными способами передачи сигналов: классическим, транссигнализацией и транспрезентацией [Kang S.et al.2020].

Классический путь передачи сигналов осуществляется при взаимодействии IL-6 в клетках с мембраносвязанным рецептором IL-6 (mIL-6R). Комплекс IL-6 и mIL-6R соединяется со вторым рецепторным белком, гликопротеином 130 кДа (gp130), который димеризуется и инициирует внутриклеточную передачу сигналов. Передача сигналов происходит через янус-киназу1 (JAK1), транскрипционный фактор STAT1/STAT3, RAS/митоген активируемую протеинкиназу (МАРК), фосфоинозитид-3-киназу (PI3K), гомолог вирусного онкогена саркомы Ямагучи (YES) / YES-ассоциированный белок (YAP) [Schaper F, Rose-John S. 2015]. IL-6 имеет сродство к mIL-6R, и не может самостоятельно связываться с gp130, в то же время mIL-6R не ассоциируется с gp130 в отсутствии IL-6. Только комплекс IL-6 и mIL-6R взаимодействует с gp130 и индуцирует его димеризацию с последующей внутриклеточной передачей сигнала. Экспрессия gp130 осуществляется всеми клетками в организме человека, а экспрессия mIL-6R ограничена несколькими типами клеток, включая лимфоциты, моноциты/макрофаги и гепатоциты. Соответственно, клетки, которые экспрессируют только gp130, в отсутствие рецепторов mIL-6R, не могут активироваться IL-6 [Kishimoto T. 2005].

Однако было показано, что локализованные на мембране клеток металлопротеазы ADAM10 и ADAM17 могут расщеплять мембранный рецептор mIL-6R, в результате чего образуется растворимый sIL-6R [Riethmueller S.et al. 2017]. IL-6 способен соединяться с растворимым sIL-6R, а формируемый ими комплекс активировать gp130 и индуцировать передачу сигналов даже в клетках, у которых отсутствует мембраносвязанный

mIL-6R]. Такой процесс получил название транссигнализация IL-6. Таким образом, путем транссигнализации IL-6 в присутствии sIL-6R может стимулировать любую клетку в организме [Rose-John S. 2014]. У большинства клеток, которые экспрессируют IL-6R, включая гепатоциты, присутствует гораздо больше молекул gp130, чем mIL-6R. Следовательно, классическая стимуляция таких клеток IL-6 приведет к вовлечению лишь нескольких молекул gp130, тогда как транссигнализация комплексом IL-6 и sIL-6R будет стимулировать все клеточные белки gp130 [Rose-John S.2017].

Существует третий тип передачи сигналов рецептора IL-6, который наблюдается только в дендритных клетках. В ходе транс-презентации связанная форма IL-6 и mIL-6R на дендритных клетках взаимодействует с gp130 на поверхности Т-клеток, активируя их. Такое альтернативное действие сигнализации IL-6 является важным событием для инициирования Th17 [Heink S.et al. 2016].

Избыточная выработка IL-6 может приводить к развитию хронических воспалительных заболеваний (например, таких как ревматоидный артрит (РА) и состоянию гипервоспаления. Цитокиновый шторм представляет собой гиперреактивные иммунные реакции, которые могут возникать у пациентов, инфицированных патогенными микроорганизмами, включая SARS-CoV-2, а также у пациентов с лейкозом, получающих инженерную Т-клеточную терапию [Shimabukuro-Vornhagen A.et al. 2018]. При возникновении цитокинового шторма происходит быстрая выработка большого количества разнообразных активных иммунных медиаторов, включая цитокины, хемокины и некоторые факторы роста, что способствует прогрессированию и тяжести сопутствующих заболеваний. Цитокиновый шторм характеризуется системным воспалением, гипервоспалением и полиорганной недостаточностью [Fajgenbaum D.C., June C.H. 2020]. В тяжелых случаях у пациентов может наблюдаться повышенный уровень С-реактивного белка, цитопения, аномальные уровни параметров



свертывания крови, диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром) и повреждение органов, что может привести к летальному исходу [Shimabukuro-Vornhagen A. et al. 2018]. В патогенез цитокинового шторма вовлечена сложная сеть различных типов клеток, секретируемых цитокинов и сигнальных путей. Повышенные сывороточные уровни IL-1, IL-6, IL-18, интерферона- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) являются типичными признаками цитокинового шторма [Teachey DT. et al. 2013].

При вирусных инфекциях, в том числе COVID-19, сигнальный каскад IL-6 представляет собой высокорегулируемый и динамичный процесс с четко выраженными про- и противовоспалительными эффектами [Rose-John S. et al. 2006]. Провоспалительные функции заключаются в активации и дифференцировке Th17, находящихся в зависимости от IL-6. IL-17, экспрессируемый в результате дифференцировки Th17, способствует миграции нейтрофилов в легкие, что приводит к повреждению тканей во время воспаления. Эта инфильтрация нейтрофилами приводит к нетозу в легких (образование внеклеточных ловушек нейтрофильных клеток (NETs), что способствует повреждению тканей и ОРДС, связанным с COVID-19 [Barnes VJ. et al. 2020]. От передачи сигналов IL-6 и IL-15 зависит быстрая индукция экспрессии гранзима В и перфорина в Т-клетках CD8+ для элиминации вирусного патогена. Активация цитотоксических Т-лимфоцитов с участием IL-6 стимулирует высвобождение TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , которые модулируют миграцию нейтрофилов [Cox M.A., Kahan S.M., Zajac A.J. 2013]. IL-6 выполняет роль эндогенного пирогенного цитокина, функционирующего как терморегулятор и усиливающего иммунный ответ при вирусных инфекциях. Ранняя передача сигналов IL-6 способствует созреванию регуляторных Т-клеток в легких и ограничивает вирусную иммунопатологию. Во время респираторных вирусных инфекций IL-6 индуцирует выработку IL-27 моноцитами и макрофагами в дыхательных путях, что способствует местному созреванию Т-клеток [Pyle C.J. et al. 2017].

Противовоспалительные эффекты IL-6 могут способствовать прогрессированию вирусных заболеваний, в конечном счете, приводя к персистенции вируса у инфицированных хозяев. IL-6 способствует Th2 иммунному ответу, одновременно ингибируя пролиферацию Th1 клеток. IL-6 стимулирует секрецию IL-4 CD4+ Т-клетками, тем самым направляя ответ на Th2, а также подавляет экспрессию IFN- $\gamma$  CD4+ Т-клетками, которая способствует поляризации Th1 и необходима для эффективного противовирусного ответа [Dienz O, Rincon M. 2009]. Выработка IL-17 при дифференцировке клеток Th17, индуцированной IL-6, приводит к усилению экспрессии антиапоптотических молекул, повышая выживаемость вируса в инфицированных клетках. При этом IL-17 также блокирует разрушение клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ). Нейтрализация IL-17 увеличивает клиренс вируса и усиливает лизис ЦТЛ, что приводит к разрушению инфицированных вирусом клеток и нарушению процессов его репликации [Hou W, Kang HS, Kim BS.2009].

Роль IL-6 в иммунопатологии COVID-19 является одной из ключевых. IL-6 занимает центральное место в иницировании и развитии цитокинового шторма. Изучение уровней сывороточного IL-6 может иметь важное значение в прогнозировании тяжести заболевания и смертности при COVID-19. Повышенный уровень IL-6 связан с ОРДС, повышенной потребностью в искусственной вентиляции легких, длительным стационарным лечением, ухудшением показателей SOFA, полиорганной недостаточностью и госпитализацией в отделение интенсивной терапии.

### **1.3. ФЕРРИТИН**

Ферритин - сложный железосодержащий белковый комплекс, который выполняет роль основного депо железа внутри клетки. Впервые ферритин был выделен в 1937 г. из селезенки лошади и охарактеризован как кристаллизующийся белок, содержащий более 20% железа. Позднее анализ химической структуры показал, что ферритин состоит на 54,5% из белка,

на 35% из гидроксида железа и на 12,1% из нуклеиновой кислоты, установлена важность ферритина в метаболизме железа и гомеостазе в целом [Granic S. 1951]. С возможностью очистки ферритина и разработкой антиферритиновых антител было определено его функциональное значение в качестве белка-накопителя железа как у прокариотических, так и у эукариотических организмов [Jacobs A, Worwood M. 1975]. Было обнаружено, что ферритин в виде цитозольного белка аккумулирует железо в большинстве тканей [Wang W. et al. 2010]. Помимо цитоплазмы ферритин выявлен в митохондриях, в ядре и в сыворотке крови [Thompson K.J. et al. 2010]. Измерение уровня ферритина в сыворотке крови стало новым косвенным методом оценки внутриклеточного железа. Ферритин имеет решающее значение в метаболизме железа, делая его доступным для нужд клетки, а также выполняет цитопротекторную функцию, защищая от токсического воздействия свободного железа на ДНК и белки. [Knovich M.A. et al. 2010.]

Внутриклеточный ферритин представляет собой полипептид, состоящий из 24 белков, составляющих оболочку апоферритина. Эта структура способна связывать до 4500 атомов  $Fe^{3+}$  внутри своего полого центра и состоит из двух типов субъединиц: Н-ферритина (FTH) и L-ферритина (FTL) [Arosio P., Adelman T.G., Drysdale J.W. 1978]. Субъединицы отличаются по уровню экспрессии в различных тканях и обладают разной функциональной активностью. FTH обладает свойствами ферроксидазы, превращая  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$ , позволяя ферритину связывать железо внутри оболочки в виде гидроксида железа. Экспрессия FTH преобладает в тканях сердца и головного мозга, возможно, из-за более высокой потребности этих тканей в активности ферроксидазы [Arosio P., Yokota M., Drysdale J.W. 1976]. FTL увеличивает стабильность белка и способствует усвоению железа [Luscieti S. et al. 2010]. Его экспрессия выше в печени и селезенке [Arosio P, Yokota M, Drysdale JW.1976]. Помимо Н- и L-ферритина, которые являются преимущественно цитозольными, выделяют

митохондриальный ферритин. Экспрессия митохондриального ферритина ограничена тканями с высокой потребностью в энергии, такими как мозг, яички и сердце, и не регулируется уровнями железа [Arosio P., Elia L., Poli M. 2017].

Сывороточный ферритин - это в большей степени L-ферритин, который секретируется из печени. Его выделение стимулируется увеличением уровня железа в сыворотке крови. Показано, что провоспалительные цитокины (IL-6 и TNF-альфа) индуцируют высвобождение ферритина в кровоток, что наблюдается при состояниях, сопровождающихся воспалением [Mahroum N. et al. 2022.]

Основная роль ферритина заключается в участии в метаболизме железа, при этом он участвует во многих физиологических и патологических процессах. Дефицит и избыток железа могут привести к негативным последствиям, нормальное функционирование ферритина поддерживает баланс, препятствуя этому. [Kotze M.J. et al. 2009]. Ферритин может присутствовать в клеточных органеллах, отличных от цитоплазмы, таких как ядро, митохондрии и лизосомы, где он может выполнять различные функции. В условиях дефицита железа ферритин обнаружен в лизосомальных компартментах (в аутофагосомах и аутолизосомах). Так происходит при ферритинофагии – процессе, при котором генерируется свободное железо из запаса ферритина [Plays M., Müller S., Rodriguez R. 2021]. Ядерный ферритин участвует в защите ДНК от окислительного повреждения, вызванного железом. [Thompson K.J. et al. 2022.]. Митохондриальный ферритин защищает клетку от активных форм кислорода (АФК) и от запрограммированной гибели клеток под действием железа (ферроптоза) [Plays M, Müller S, Rodriguez R.2021]. В цитоплазме большая часть железа утилизируется ферментами или связывается ферритином, предотвращая окислительное повреждение клетки [Kernan K.F., Carcillo J.A. 2017].

Эффекторное действие сывороточного ферритина недостаточно изучено, но изменения его уровней могут быть клинически значимыми. Сывороточный ферритин используется в качестве индикатора уровня тканевого железа в организме для выявления состояний, связанных с избытком железа или для дифференцировки железодефицитных и нежелезодефицитных типов анемии. Он представляет собой один из сывороточных маркеров воспаления, и в этом отношении исследование уровней ферритина может помочь в диагностике различных состояний, включая инфекционные, аутоиммунные, онкологические заболевания, болезнь Стилла, неврологические расстройства и др. [Moreira A.C., Mesquita G., Gomes M.S. 2020].

Уровень ферритина, как важного участника метаболизма, строго регулируется. Существует посттранскрипционный путь регуляции, он осуществляется за счет взаимодействия реагирующих на железо элементов (IRE) на ферритин-кодирующих РНК с регуляторными белками железа (IRP). IRP связывают IRE в условиях низкого содержания железа и таким образом ингибируют трансляцию ферритина, регулируя его содержание в соответствии с внутриклеточными уровнями железа [Torti F.M., Torti S.V. 2002]. Помимо железа транскрипция ферритина индуцируется провоспалительными цитокинами (IL-1 $\beta$ , IL-6 и фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) путем активации ядерного фактора (NF- $\kappa$ B) [Ruddell R.G. et al. 2017]. Синтез ферритина в макрофагах стимулируют также  $\gamma$ -интерферон (IFN $\gamma$ ) и липополисахарид (LPS) [Ghosh S., Nevi S., Chuck S.L. 2004]. Механизм регуляции ферритина на уровне клетки может быть связан с индукцией ферроптоза. Это уникальная форма регулируемой клеточной гибели, которая включает повышенную внутриклеточную доступность железа, окислительный стресс и перекисное окисление липидов [Gao M. et al. 2016].

Ферритин не только регулируется воспалительными стимулами, но и сам может функционировать как усилитель воспалительной реакции.

Продемонстрировано, что FTH может активировать сигнальный каскад в звездчатых клетках печени крысы, что приводит к повышенной экспрессии нескольких провоспалительных цитокинов [Ruddell R.G. et al. 2019]. Не только сывороточные, но и внутриклеточные уровни ферритина могут влиять на выработку цитокинов и других медиаторов иммунными клетками. Так, у макрофагов с дефицитом FTH под действием IFN $\gamma$  и / или бактериального LPS обнаружена более низкая выработка оксида азота, IL-6 и ИЛ-1 $\beta$  [Mesquita G. et al. 2020; Zarjou A. et al. 2019].

Сывороточный ферритин является белком острой фазы, его уровень повышается в сыворотке крови во время инфекционных заболеваний и может использоваться в качестве маркера воспаления и инфекции. Учитывая фундаментальную роль ферритина в метаболизме железа, важно понимание его влияния на взаимодействие организма хозяина и патогена путем модуляции доступа к этому важному компоненту микробных клеток и клеток-хозяев. Хотя повышенные уровни ферритина при инфекционных заболеваниях обычно трактуются как маркер воспаления, они являются важным механизмом защиты хозяина из-за токсичности железа для бактерий, приводящей к ингибированию их роста [Kernan K.F., Carcillo J.A. 2017].

Роль ферритина в контексте воспаления имеет большое значение для защиты организма от инфекции, травмы, аутоиммунных и онкологических заболеваний. При метаболизме двухвалентное железо (Fe $^{+2}$ ) вступает в реакцию с H $_2$ O $_2$  с образованием гидроксильного радикала, одного из наиболее активных кислородных радикалов [Di Virgilio F. 2004]. Радикалы кислорода помогают нейтрофилам и макрофагам во время фагоцитоза, взаимодействуя с клеточными компонентами и вызывая их окисление. Кислородные радикалы проникают в жидкости и ткани вокруг воспаления, что приводит к значительному повреждению клеток. [Closa D, Folch-Puy E. 2004]. Снижение доступного железа за счет повышения

количества ферритина защищает от повреждений свободных радикалов в очаге воспаления.

Установлено, что высокие уровни ферритина выявляют во время острых инфекционных заболеваний, при этом показатели коррелируют с длительностью и тяжестью заболевания. Повышение количества ферритина в сыворотке крови не зависит от этиологической значимости и отмечается как при вирусных, так и при бактериальных инфекциях [Hulthén L. et al. 1998]. При этом чрезвычайно высокие уровни ферритина рассматриваются как отдельная патологическая единица. Гиперферритинемия – состояние, при котором уровень ферритина повышается более чем на 400 нг/мл [Gómez-Pastora J. et al. 2020]. Показано, что такие высокие уровни ферритина коррелируют с совокупностью симптомов, объединенных под названием “гиперферритинемический синдром”, синдром Шенфельда [Rosário C. et al. 2017]. Спектр гиперферритинемического синдрома состоит из нескольких воспалительных, аутоиммунных и инфекционных заболеваний, общей основой и связующим звеном которых является гиперферритинемия. К таким заболеваниям относится болезнь Стилла у взрослых - системное аутовоспалительное заболевание неизвестной этиологии, синдром активации макрофагов (MAS) - гипериммунное осложнение ряда аутоиммунных заболеваний, катастрофический антифосфолипидный синдром - системное аутоиммунное заболевание, вызываемое образованием аутоантител против фосфолипидсвязанных белков тромбоцитов, септический шок. В отличие остальных проявлений септический шок представляет собой инфекционную часть спектра гиперферритинемического синдрома. Септический шок характеризуется системной гипоперфузией, приводящей к полиорганной недостаточности [Сессоні М. et al. 2018]. Показано, что показатель смертности среди детей с тяжелым сепсисом и септическим шоком, поступивших в отделение интенсивной терапии, коррелировал с высокими показателями ферритина в сыворотке крови, при этом уровни ферритина более 500 нг / мл

были связаны со значительно более высоким уровнем смертности по сравнению с более низкими уровнями ферритина [Garcia P.C. et al. 2017].

На клеточном уровне точная роль ферритина в патофизиологии COVID-19 до конца не изучена. Однако современные данные указывают, что в ответ на повреждение цитокины стимулируют выработку гепатоцитами защитных белков, включая С-реактивный белок и ферритин. Выработка ферритина индуцируется главным образом IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$  и LPS бактерий. В выделении провоспалительных цитокинов ведущее участие принимают макрофаги, а также поврежденные клетки, что объясняет высокий уровень ферритина в патогенезе COVID-19. Ферритин способствует дальнейшему высвобождению провоспалительных медиаторов, увеличивая воспалительную нагрузку и приводя к «порочному кругу». Это достигается путем активации ядерного фактора NF- $\kappa$ B, что приводит к усилению регуляции транскрипции гена ферритина [Ruscitti P. et al., 2020]. Повышение уровня ферритина крови у пациентов со среднетяжелыми формами COVID-19 сопровождается нарушением процессов созревания Т-клеточного звена адаптивного иммунитета, усиленной пролиферацией В-лимфоцитов, без усиления процессов продукции антител и является предиктором более тяжелого течения инфекции [Сизякина Л.П. и др., 2021].

Ферритин может служить важным диагностическим показателем в качестве предиктора тяжелого течения и летальных исходов при COVID-19. Однако требуются дополнительные исследования его уровней в сыворотке пациентов с COVID-19 для установления прогностического значения.

#### **1.4. ТРОПОНИН**

Сердечный тропонин (сTnI) является рекомендуемым биомаркером для выявления повреждения и инфаркта миокарда (ИМ) [Wu A.H.B., 2018; Thygesen K, 2018]. Клиническая значимость сTn выходит за рамки



диагностики и приобретает все большую роль в прогнозировании рисков у пациентов с симптомами острого коронарного синдрома (ОКС), с сердечной недостаточностью и пациентов со стабильными сердечно-сосудистыми заболеваниями [Bularga A .2019].

До конца 60-х годов тропонин считался единым гомогенным белком, однако позднее стало понятно, что он представляет собой комплекс из множества субъединиц. В 1973 г. была введена номенклатура субъединиц, основанная на функциональной активности четырех основных фракций тропонина [Greaser ML, Gergely J.1973]. Было обнаружено, что фракции 2, 3 и 4 конститутивно необходимы для нормального функционирования тропонина: TnI (фракция 2, 24 кДа) оказывает ингибирующее действие на Mg<sup>2+</sup>-зависимую актомиозинатфазу в отсутствие ионов Ca<sup>2+</sup>, TnT (фракция 3, 37 кДа) является механическим связующим звеном между тропомиозином на тонкой нити и тропониновым комплексом, TnC (фракция 4, 20 кДа) связывает Ca<sup>2+</sup> и регулирует активацию тонкой нити [Collinson PO, Voa FG, Gaze DC. 2001].

Основной сократительной единицей сердца является саркомер, который состоит из толстых (миозин) и тонких нитей. Тонкая нить представлена спиралью из двух нитевидных актинов (F-актин), которые являются полимерами глобулярно-актиновых субъединиц (G-актин). В канавке спирали F-актина содержится комплекс тропомиозин-тропонин. Активация сокращения миофибрилл происходит путем деполяризации, а затем модулируется за счет взаимодействия Ca<sup>2+</sup> со специфическими регуляторными участками, расположенными в сократительном аппарате поперечно - полосатых мышц [Тобасман LS.1996]. Регуляторный участок – это тропониновый комплекс, представляющий собой гетеротример, иммобилизованный на тонкой нити. Он действует аллостерическим образом, регулируя Ca<sup>2+</sup>-зависимое взаимодействие актиновых и миозиновых нитей. [Baker JO.et al. 2011.]

В то время как гибель миоцитов сердца может произойти уже в течение первых 15 мин. после начала ишемии миокарда, первые гистологические признаки появляются через 4-6 ч. Сердечный тропонин (сTn) высвобождается из миокарда через несколько часов от начала периода ишемии и обнаруживается в венозной кровотоке, когда интерстициальная жидкость из зоны инфаркта очищается лимфатическими путями сердца [Gaze DC, Collinson PO.2008]. сTnI/T выявляются не только в свободной форме, но и в виде нековалентных тройных и бинарных комплексов. После острого инфаркта миокарда (ОИМ) сTnT появляется в крови чаще всего в виде смеси свободных форм и тройного комплекса T: I: C, а сTnI обнаруживается преимущественно в виде бинарного комплекса I: C. При этом все формы тропонина могут быть подвержены окислительно-восстановительным модификациям и существовать в окисленном и восстановленном виде [Wu AH.et al.2011].

В результате протеолитической деградации в миокарде тропонин выделяется из миофибрилл как в виде интактных белков, так и в виде продуктов распада. В этом процессе задействованы три фермента миокарда: кальпаин 1, ( $Ca^{2+}$ -зависимая цистеиновая протеаза) [Nishida K, Yamaguchi O, Otsu K.2015], цистеиновая протеаза, (каспаза, участвующая в индукции апоптоза), матриксная металлопротеиназа-2, (цинкзависимая эндопептидаза). [McDonough JL, Van Eyk JE.2004] Эти ферменты присутствуют и в крови, поэтому комплексы сTnI (T:I:C и I:C комплекс) также подвержены деградации в кровообращении. Наиболее восприимчивы к протеолизу N- и C-концевые области сTnI. Центральная область сTnI представляет собой  $Ca^{2+}$ -зависимый TnC-связывающий домен и является более стабильной. [Collinson PO, Voa FG, Gaze DC.2001]. Именно этот структурный участок в настоящее время выявляется в большинстве клинических исследований сTnI.

Распределение тропонинов в кардиомиоцитах неравномерно, 92-95% тропонинов находятся в связанном виде, а примерно 5-8 % сTnI и сTnT располагаются свободно в цитоплазме [White HD.2011]. Свободно располагающиеся в цитоплазме миоцитов тропонины составляют пул, способный к раннему высвобождению. Этот пул независимо от причины и типа повреждения выделяется первым.

Описано несколько потенциальных механизмов повышения уровня тропонина. Одним из ведущих механизмов является некроз миоцитов, к которому приводят ишемические, воспалительные, инфильтративные, токсические воздействия и прямые травмы. Запрограммированная гибель клеток (апоптоз) связана с активацией ферментов – каспаз, индуцирующих расщепление структурных белков, что приводит к высвобождению тропонина. Естественное обновление клеток, в незначительной степени может приводить к высвобождению тропонина. Показано, что примерно 50% клеток миоцитов обмениваются в течение нормальной продолжительности жизни. [Bergmann O.et al.2009.] Потенциальной причиной выделения тропонина является выведение клетками продуктов протеолитического распада тропонина [Feng J.et al.2004]. Этот процесс происходит без гибели клетки и разрушения клеточной мембраны и осуществляется путем протеолиза тропонина на небольшие фрагменты, что позволяет проходить им через целостную мембрану клетки. Показано, что 15 минут умеренной ишемии вызывают выработку продуктов распада сTnI. [McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE.1999]. К проницаемости тропонинов из цитоплазмы могут приводить растяжения миокарда или обратимое повреждение мембраны миоцитов. В модельных условиях на чувствительных к растяжению интегринах показано, что высвобождение интактного тропонина из культивируемых жизнеспособных кардиомиоцитов происходит без увеличения выработки лактата, что свидетельствует о том, что высвобождение может происходить без ишемии или некроза. Кроме того, на модели крыс было показано, что увеличение предварительной нагрузки

связано с высвобождением тропонина cTnI независимо от ишемии [Feng J. et al. 2007]. Еще одним механизмом является активная секреция пузырьков или мембранная экспрессия с выделением тропонина без возникновения некроза, осуществляемая путем образования мембранозных пузырьков во время ишемии. Показано, что культивируемые сердечные миоциты формируют пузырьки во время кислородного голодания и высвобождают ферменты цитоплазмы без некроза [Schwartz P. et al. 1994].

У пациентов с COVID-19 могут наблюдаться различные клинические проявления, свидетельствующие о сердечно-сосудистых нарушениях (боль в груди и подъем ST, сердечная недостаточность, кардиогенный шок, напряжение правого желудочка, аритмия, миоперикардит и др.), а также сосудистая дисфункция (эмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен) [Varga Z. et al. 2020] [Fried JA. et al. 2020]. Повреждение миокарда возникает в результате развития инфаркта миокарда 1-го и 2-го типов, миокардита, кардиомиопатии, микрососудистой дисфункции, коагулопатий и цитокинового шторма [Lang JP. et al. 2020], Важное значение в диагностике таких состояний имеет исследование уровней cTn. Обнаружение повышения количества cTnI свидетельствует о структурных повреждениях кардиомиоцитов, поэтому последующий мониторинг cTnI и других биомаркеров могут иметь дополнительную прогностическую значимость [Puntmann V. O. et al. 2020].

При анализе зависимости повреждения миокарда, выявленного при поступлении, с риском госпитальной смертности продемонстрировано, что из 416 пациентов, госпитализированных с COVID-19, у 82 начальные значения cTnI были выше верхнего референтного уровня, что свидетельствует о том, что у 19,7% исследуемой когорты имелись признаки повреждения миокарда. При этом у пациентов с повышенными уровнями cTnI развилось более тяжелое заболевание по нескольким

показателям, включая смертность: 42 летальных случая из 82 (51,2%) против 15 из 334 (4,5%) [Shi S.et al.2020].

Согласно данным метаанализа на основе 4-х исследований у 341 пациента с COVID-19 значения сTnI были существенно повышены у пациентов с тяжелым течением SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами с более легкими формами заболевания. [Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F.2020]

Таким образом, первоначальное измерение биомаркеров повреждения сердца сразу после госпитализации у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, а также мониторинг динамики изменения уровня сTn во время пребывания в стационаре могут помочь выявить пациентов с возможными повреждениями сердца и тем самым прогнозировать прогрессирование COVID-19 в сторону ухудшения клинической картины.

## **1.5. ПРОКАЛЬЦИТОНИН**

Прокальцитонин (PCT) представляет собой полипептид, состоящий из 116 аминокислот, который является внутриклеточным предшественником кальцитонина. Кальцитонин – это пептидный гормон, основная доля которого синтезируется парафолликулярными С-клетками щитовидной железы. Он вызывает снижение концентрации кальция в крови за счет уменьшения активности остеокластов, скорости костной резорбции, реабсорбции кальция в почках и абсорбции в кишечнике [Лазарева Н.Б. и др.2020].

PCT был впервые выделен в 1975 году в ультимо-бранхиальных железах цыплят при изучении биосинтеза кальцитонина [Moya F, Nieto A, R-Candela JL.1975]. Точная структура PCT описана после его обнаружения в ткани медуллярной карциномы щитовидной железы человека в 1981 году [Allison Jet al.1981]. Уровень PCT повышался только у пациентов с медуллярной карциномой и мелкоклеточным раком легких, тогда как у

здоровых людей количество PCT было ниже порога обнаружения. Позднее было выявлено, что у пациентов со стафилококковым синдромом токсического шока повышены уровни PCT [Chesney RW.et al.1983]. В многочисленных исследованиях изучалась информативность PCT в качестве биомаркера для дифференциации бактериальной инфекции и сепсиса от небактериальных причин, которые вызывают системное воспаление в организме человека. В 1993 году PCT был впервые описан как важный диагностический показатель при бактериальной инфекции [Assicot M.et al.1993]. С помощью моноклонального иммунорадиометрического анализа предшественников кальцитонина измеряли концентрацию прокальцитонина в сыворотке крови у детей с бактериальными и вирусными инфекциями. Выявлено, что уровни PCT в сыворотке крови у пациентов с тяжелыми инвазивными бактериальными инфекциями были очень высокими (6-53 нг/мл) по сравнению с пациентами с легкими местными бактериальными или вирусными инфекциями (0,1-1,5 нг/мл), а также отмечено, что уровни PCT быстро снижались во время антибактериальной терапии. При этом показатели кальцитонина были в пределах нормальных величин у всех пациентов, независимо от уровня PCT и тяжести состояния. Был сделан вывод, что концентрация PCT в сыворотке крови повышается во время бактериальных септических состояний и коррелируют с тяжестью микробной инвазии. Показано, что уровни PCT увеличиваются в ответ на введение здоровым добровольцам эндотоксина – липополисахарида грамотрицательных бактерий (LPS). [Dandona P.et al.1994] При последовательном измерении количества PCT в сыворотке обнаружено его увеличение уже через 4 часа после введения LPS. Максимум показателя PCT достигали через 6 часов и поддерживались на одном уровне в течение 8 и 24 часов, далее его количество снижалось. Таким образом, период полураспада PCT составил 24 часа. PCT вызвал значительный интерес как потенциальный прогностический маркер

инфекции для оценки ее наличия, развития, прогнозирования смертности и руководства при назначении антибиотиков.

Исследования показали высокую диагностическую эффективность PCT для дифференциации инфекций кровотока и бактериемии [Schuetz P, Mueller B, Trampuz A.2007]. Определение уровней PCT продемонстрировало более высокую информативность по сравнению с определением количества лейкоцитов и С-реактивного белка для отличия бактериемии от истинной инфекции кровотока у пациентов с ростом коагулазонегативных стафилококков в их культурах крови.

В норме синтез PCT происходит в С-клетках щитовидной железы. PCT отщепляется от препрокальцитонина ферментом с пептидазной активностью в эндоплазматическом ретикулуме. Далее PCT расщепляется с образованием N-концевого PCT, С-концевого катакальцина и активного кальцитонина. В физиологических условиях концентрация PCT в сыворотке крови очень низкая (<0,05 нг/мл). Однако у пациентов с тяжелыми бактериальными инфекциями происходит синтез PCT вне щитовидной железы клетками печени, поджелудочной железы, почек, кишечника, легких, а также лейкоцитами. Концентрация PCT в сыворотке крови при этом может увеличиваться от 100 до 1000 раз. У пациентов с сепсисом выявляют уровень PCT в крови выше 100 нг/мл, а величина такого повышения зачастую коррелирует с тяжестью инфекции и неблагоприятным прогнозом [Lippi G, Sanchis-Gomar F.2017].

Механизмы, которые приводят к усиленной продукции PCT вне щитовидной железы, объясняют прямой или непрямой бактериальной стимуляцией гена кальцитонина CALC-1. Под прямой стимуляцией подразумевают непосредственное воздействие LPS или других бактериальных токсинов, непрямая – обусловлена развитием иммунных реакций в ответ на инфекцию [Linscheid P.et al.2013]. У пациентов с тяжелыми бактериальными инфекциями увеличенная

выработка PCT происходит в течение 2-4 часов от начала сепсиса, пиковые величины приходится на 6-8 часов и сохраняются до тех пор, пока продолжается воспалительный процесс. Исследование динамики изменения количества прокальцитонина в сыворотке крови может иметь более высокую клиническую информативность, чем измерение его абсолютной величины. Повышение концентрации PCT с течением времени связывают с ухудшением прогноза, тогда как снижение - с улучшением состояния пациента и/или терапевтической эффективностью применяемых препаратов [Lippi G, Sanchis-Gomar F.2017].

Регуляция вырабатываемого клетками щитовидной железы PCT и PCT, обнаруживаемого при воспалении, имеет существенные различия. К увеличению выработки кальцитонина (и его предшественника PCT) тиреоидными С-клетками приводит повышение концентрации кальция в крови, бета-адренэргическая стимуляция, глюкокортикоиды, глюкагон, гастрин и др. Соматостатин и витамин Д могут оказывать супрессорное воздействие на продукцию кальцитонина. Однако количество PCT, связанного с воспалением, не изменяется под воздействием перечисленных стимулов, а индуцируется бактериальным эндотоксином и воспалительными цитокинами. [Maruna P, Nedelníková K, Gürlich R.2002]. Увеличение уровня экспрессии гена CALC-1 обусловлено такими цитокинами как IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ . Показано, что интерферон- $\gamma$  снижает экспрессию CALC-1, поэтому при вирусных инфекциях обнаруживается более низкий уровень PCT [Aloisio E, Dolci A, Panteghini M.2019]. В модельных условиях *in vivo* у лабораторных животных мРНК PCT обнаружена во многих органах. При развитии бактериальной инфекции PCT выделяется в кровоток, и концентрация PCT в сыворотке крови увеличивается, при этом уровень кальцитонина остается неизменным. [Maruna P, Nedelníková K, Gürlich R.2002.] В исследованиях *in vitro* при изучении эффектов PCT на липополисахарид-индуцированное высвобождение цитокинов в мононуклеарных клетках периферической крови



человека обнаружено, что высвобождение интерлейкина-10 (IL-10) и фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) клетками крови снижалось зависимым от концентрации PCT образом через 24 часа для IL-10 и 4 часа для TNF $\alpha$ . Это позволило сделать вывод о способности PCT нейтрализовать бактериальный эндотоксин, что приводит к снижению уровня основных медиаторов воспаления, индукция синтеза которых происходит под действием LPS [Matera G.et al.2012].

Причина, по которой PCT секретируется из клетки, до сих пор недостаточно изучена. Предполагают, что во время инфекции происходит изменение регуляции гена CALC-1, что приводит к ограниченной доступности и активности различных ферментативных белков и факторов секреторного пути [Matwiyoff GN.2012].

Показано, что PCT может иметь важное диагностическое значение для использования в качестве клинического маркера: его концентрация в сыворотке крови при инфекции быстро повышается в течение 6-12 часов после воздействия активирующих стимулов, а уровни циркулирующего PCT снижаются вдвое в тот момент, когда дальнейшее развитие инфекционного процесса ингибируется иммунным ответом хозяина или антибактериальной терапией [Becker KL.2004.]. При этом уровни PCT коррелируют с бактериальной нагрузкой [Muller F.2010] и тяжестью инфекции [Schuetz P.et al.2012]. Таким образом, выявление повышения количества PCT может использоваться в выявлении наличия и прогнозировании исходов заболевания, а динамика изменения количества PCT, нарастающего с течением времени является предиктором летального исхода у пациентов с внебольничной пневмонией и тяжелобольных пациентов с сепсисом [Jensen JU.2006].

Исследования, направленные на выявление необходимости назначения эмпирической антибактериальной терапии, а также прекращения лечения антимикробными препаратами у пациентов с сепсисом, показали

эффективность использования динамики уровней РСТ в сыворотке крови. Определение количества РСТ может помочь при принятии решения для назначения антибиотиков при инфекциях нижних дыхательных путей, сокращения продолжительности курса антибактериальной терапии, а также влияет на уровень летальности у таких пациентов [Schuetz P.et al.2018].

Несмотря на то, что количество РСТ может быть использовано в качестве прогностического показателя при определении тяжести заболевания, его определение имеет некоторые нюансы. На показатели РСТ могут влиять ранее существовавшие сопутствующие заболевания, такие как хронические болезни почек и застойная сердечная недостаточность. При этих заболеваниях исходные значения РСТ могут быть высокими. Тем не менее, определение уровней РСТ может предоставить бесценную информацию, если рассматривать его изменение в клиническом контексте [Yunus I, Fasih A, Wang Y.2018].

Дифференциальная диагностика между ранней стадией COVID-19 и классической бактериальной внебольничной пневмонией может быть затруднена. На более поздних стадиях заболевания у пациентов с COVID-19 может развиваться фаза гипервоспаления, которую сложно отличить от присоединения вторичной бактериальной инфекции. Поэтому эмпирическая антибактериальная терапия назначается большому количеству пациентов с COVID-19 во время пребывания в стационаре [Rawson TMet al.2020]. Чрезмерное и нерациональное применение антибиотиков может приводить к прогрессированию глобальной устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам [Huttner BD.et al.2020]. Предполагают, что потенциальным последствием пандемии COVID-19 может быть ускоренное распространение резистентности к антибиотикам. В связи с этим РСТ вызывает интерес как потенциально специфичный маркер бактериальной инфекции. РСТ вырабатывается в органах, отличных от физиологической тиреоидной продукции, в ответ на эндотоксин или медиаторы,

продуцируемые в результате бактериальной инфекции (ИЛ-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6) и коррелирует с распространенностью и тяжестью заболевания [Gogos SA.et al.2000]. Поскольку количество сывороточного PCT снижается интерфероном- $\gamma$ , цитокином, индукция которого происходит в большей степени в ответ на вирусные инфекции, PCT может помочь в дифференциальной диагностике бактериальных и вирусных заболеваний.

Сравнение уровней PCT в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 и контрольной группы (с подтвержденной SARS-CoV-2-негативной пневмонией) продемонстрировало, что у больных с COVID-19 отмечали небольшое увеличение (но намного меньше 0,5 нг/мл) уровня PCT, в сравнении с контролем, где у 38,5% пациентов уровень PCT превышал 0,5 нг/мл. Это позволило предположить, что PCT является важным показателем для дифференциальной диагностики между пациентами, инфицированными SARS-CoV-2, и пациентами, инфицированными SARS-CoV-2-негативной пневмонией [Chen X.et al.2020].

У большого числа госпитализированных пациентов с COVID-19 возникают вторичные бактериальные инфекции, связанные с факторами риска внутрибольничных инфекций (продолжительной искусственной вентиляцией легких (ИВЛ), катетеризацией мочевого пузыря, применением периферических венозных катетеров), и являются характерными признаками тяжелого заболевания [Chen T.et al.2020]. Бактериальная пневмония, возникающая на фоне ИВЛ, является наиболее распространенной вторичной бактериальной инфекцией, однако пациенты с тяжелой формой COVID-19 восприимчивы также к инфекциям мочевыводящих путей и кровотока [Cheng K.et al.2020]. Тем не менее, у многих пациентов с COVID-19 нет вторичной бактериальной инфекции, они редки в случае легкой формы заболевания, и таким пациентам не требуется назначение антибактериальной терапии. Эмпирическое применение антибиотиков очень распространено, но при отсутствии сопутствующей бактериальной инфекции у пациентов

с COVID-19 антибактериальная терапия не имеет смысла [Vaughn V.M.et al.2020].

В нескольких исследованиях была продемонстрирована связь количества PCT с сопутствующими бактериальными инфекциями у госпитализированных пациентов с COVID-19 [Izcovich A.et al.2020]. Обнаружено, что уровень PCT  $<0,25$  мкг/л в 81% имел отрицательную прогностическую ценность, а в 93% случаев количество PCT в сыворотке крови  $>1$  мкг/л имело положительную прогностическую ценность для бактериальной коинфекции [van Berkel M.et al.2020]. В соответствии с этим был сделан вывод, что пациентам с COVID-19 в отделении интенсивной терапии можно безопасно отказаться от антибактериальной терапии при выявлении низких уровней PCT.

Сравнительный анализ уровней PCT у пациентов с COVID-19 показал более выраженное повышение PCT в более тяжелых случаях по сравнению с нетяжелым течением заболевания [Zhang JJ. et al.2020]. В отличие от С-реактивного белка, уровень которого обычно повышен у пациентов с COVID-19 на начальных этапах заболевания, уровень PCT часто низок [Lippi G, Plebani M.2020]. PCT увеличивается у пациентов с тяжелым течением COVID-19 и / или у пациентов с вторичными бактериальными инфекциями [Wang D.et al.2020]. Повышенные значения PCT были связаны с почти пятикратным повышением риска тяжелой инфекции SARS-CoV-2. Отмечено, что значения PCT остаются в пределах референтных диапазонов у пациентов с неосложненной инфекцией SARS-CoV-2, а любое существенное повышение отражает присоединение вторичной бактериальной инфекции и развитие тяжелой формы заболевания, а также более сложной клинической картины [Lippi G, Plebani M.2020]. У детей с инфекцией нижних дыхательных путей обнаружено повышение уровней PCT, что отражает присоединение сопутствующей бактериальной инфекции при COVID-19 [Xia W.et al.2020].

Определение PCT в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 является диагностическим маркером присоединения вторичных бактериальных инфекций и может служить предиктором ухудшения состояния и неблагоприятных исходов у пациентов с COVID-19. В связи, с чем контроль динамики уровней PCT может позволить более целенаправленно и рационально применять антимикробную терапию, контролировать течение заболевания, а также прогнозировать исход.

## 1.6. С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК

С-реактивный белок (CRP) является белком суперсемейства пентраксинов. Это один из ключевых белков врожденного иммунного ответа. Впервые CRP был обнаружен в 1930 г. Тиллетом и Френсисом в серологических исследованиях материалов больных пневмококковой пневмонией. Отдельная фракция из сыворотки таких пациентов (CRP) осаждала небелковый соматический компонент - полисахарид «С», выделенный из клеточной стенки *S. pneumonia* [Tillett WS, Francis T.1930]. Впоследствии было выявлено, что уровни CRP повышаются у пациентов с различными воспалительными изменениями, благодаря чему CRP был отнесен к белкам острой фазы [Abernethy TJ, Avery OT.1941]. На сегодняшний день CRP широко используется в клинической практике в качестве маркера воспаления [Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN.1993].

Структурно CRP представляет собой негликозилированный белок, состоящий из пяти гомологичных глобулярных субъединиц, нековалентно связанных между собой [Shrive AK.et al.1993]. Каждая субъединица имеет регулируемую кальцием область связывания с лигандами, экспрессирующими фосфохолиновые фрагменты, и эффекторную область, с помощью которой происходит взаимодействие CRP с глобулярным доменом фактора комплемента 1q (C1q) и Fc-рецепторами на поверхности клеток [Gaboriaud C.et al.2003]. Биоактивность CRP заключается в распознавании патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) бактериальных

клеток или измененных клеточных мембран, образующихся в результате деформации фосфолипидных бислоев в ответ на гидролитическое действие фосфолипазы A2 и окисления ацильной цепи липидов [Caprio V.et al.2018]. При связывании CRP вызывает активацию эндотелиальных клеток, тромбоцитов, лейкоцитов, системы комплемента и влияет на общую воспалительную реакцию организма хозяина, включая самый ранний ответ на любые угрозы тканевому гомеостазу [Wu Y.et al.2015]. Хотя CRP широко изучался как белок острой фазы, его роль в активации и регуляции защитных механизмов до сих пор является недостаточно изученной. Особенно требует дополнительных исследований особенности выработки и уровня циркуляции CRP у лиц старшей возрастной группы.

Количественное определение CRP, благодаря своей доступности при оказании медицинской помощи, заменило определение СОЭ в качестве более информативного диагностического показателя текущего воспаления у человека. Уровень CRP может изменяться в 10-100 раз в течение 6-72 ч после первичного повреждения тканей. Его количество рассматривают не только как показатель развития воспаления, но и как показатель степени активной стимуляции острой фазы, а также длительности воспалительного процесса. Экстремальное повышение CRP в крови, которое сохраняется или повторяется с течением времени, обычно воспринимают как неблагоприятный предиктор прогрессирования заболевания [Rajab IM, Hart PC, Potempa LA.2020].

CRP существует в различных изоформах: нативной (nCRP), мономерной (mCRP) и промежуточной (mCRPm). nCRP представляет собой нативный белок, образованный пятью мономерами [Li NY.et al.2014]. Эта изоформа состоит из двух лигандов на противоположных сторонах молекулы, один из них связывает кальций и PAMP, а второй взаимодействует с C1q комплемента и Fc-рецепторами. Основное количество nCRP образуется в гепатоцитах, незначительно его синтезируют и другие клетки, такие как

эндотелиальные, мышечные, макрофаги, лимфоциты и адипоциты [Semple JW, Italiano JE Jr, Freedman J.2011]. nCRP находится в эндоплазматическом ретикулуме и медленно высвобождается в кровоток, однако при воспалении под действием провоспалительных цитокинов эта изоформа начинает активно выделяться в окружающую среду. Изоформа nCRP диссоциирует с образованием мономеров (mCRP). Во время воспалительного процесса эти две изоформы обладают различными биологическими эффектами [Mihlan M.et al.2009]. В случае связывания nCRP с клеточной мембраной происходит частичная диссоциация nCRP и образование промежуточной формы (mCRPm) с высокой способностью активировать комплемент [Mihlan M.2011].

Активация комплемента является значимым этапом в биологических эффектах CRP [Eltzschig НК, Eckle T.2011]. Он активирует комплемент по классическому пути, взаимодействуя с C1q компонентом. Последний запускает активацию компонентов комплемента C4, C2 и C3. Активированный C3 индуцирует опсонизацию (за счет образования C3b и C4b), клеточный лизис (через активацию C5- C9 и как следствие образование мембраноатакующего комплекса (МАК) и воспаление (за счет продукции C3a и C5a) [Griselli M.et al.2009]. Изоформа mCRP обладает более высокой провоспалительной активностью, чем nCRP. mCRP активирует больше комплемента, образует больше МАК, индуцирует хемотаксис моноцитов и лейкоцитов в очаг воспаления [Eltzschig НК, Eckle T.2011.].

При связывании с Fc-рецепторами на поверхности клеток CRP вызывает индукцию провоспалительных цитокинов [Ridker PM.et al.2018]. CRP активирует апоптоз клеток посредством нескольких механизмов. Во-первых, это индукция цитокинов – TNF- $\alpha$ , IL-1- $\beta$ , активных форм кислорода, активация генов, связанных с экспрессией молекул адгезии и хемокинов, активация каспазы-3 и др. Во-вторых, nCRP ингибирует эндотелиальную синтазу оксида азота, что приводит к уменьшению оксида

азота, увеличивает экспрессию молекул адгезии, вызывает сужение сосудов и воспаление с последующим повреждением собственных тканей [Valenzuela NM, Reed EF.2017].

В литературе на данный момент нет четких данных о референсных величинах CRP в сыворотке крови. По данным литературы физиологические уровни могут составлять от 0,3 до 1,2 мкг/мл, до 5,0 мкг/мл, 8,0 мкг/мл и даже 10 мкг/мл [Вельков В.В. 2010; Титов В.Н.2008]. Разные референсные значения CRP приводят производители реагентов для его определения (ЗАО «Вектор–Бест» – до 5,0–8,0 мг/л, ЗАО «Диакон» – до 5,0 мг/л, ООО «Ольвекс-диагностикум» – до 10,0 мг/л). У клинически здоровых лиц уровни CRP могут варьировать в зависимости от возраста. Так средние значения уровня CRP у людей до 30 лет составили от 1,29 до 4,79 мкг/мл, от 31 до 50 лет - 3,1–10,0 мкг/мл и выше, в группе 51–60 лет увеличилась частота выявления количества CRP, превышающего 10,0 мкг/мл, в группе старше 61 года в 60 % случаев величина CRP была выше 10,0 мкг/мл [Т.В. Блинова и др.2018]. Одновременно показано, что уровни CRP выше 10 мкг/мл говорят о продолжающейся воспалительной реакции, повреждающей ткани пациента. Уровни CRP, увеличивающиеся с 10 до более 100 мкг/мл, свидетельствуют о более активно прогрессирующем воспалении и прогрессировании заболевания. Концентрации более 100 мкг/мл – прогностический признак неблагоприятного исхода и /или отсутствия ответа на лечение [Ridker PM.et al.2018]. Количественное значение CRP в крови достаточно быстро и выражено колеблется в ответ на изменения, связанные с повреждением тканей и развитием воспаления, однако отсутствие полного понимания его истинной функции ограничивает диагностическую интерпретацию его уровней в крови [Rajab IM, Hart PC, Potempa LA.2020].

## **1.7. МОЗГОВОЙ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД**



Ряд натрийуретических пептидов состоит из трех пептидов, обладающих биологической активностью: натрийуретический пептид предсердий (ANP), мозговой натрийуретический пептид (BNP) и натрийуретический пептид С-типа (CNP) [Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K.2019]. Данные структурно связанные гормональные факторы действуют через натрийуретическую пептидную систему (NPS) и регулируют нейрогуморальные пути, водный и электролитный баланс, тонус сосудов, клеточную пролиферацию и воспалительные процессы [Silver MA.2006].

Первоначально BNP был выделен в 1988 г. из тканей головного мозга свиньи, однако более поздние исследования показали, что основная его выработка происходит в сердечной ткани [Sudoh T.et al.1988.].

Натрийуретические пептиды (NP) синтезируются в клетке в виде препрогормонов [Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM.2006]. Активная форма каждого пептида имеет типичную структуру дисульфидного кольца из 17 аминокислот с переменными С-концевыми и N-концевыми хвостами [Potter LR.et al.2009]. При увеличении объема и повышении давления BNP секретируется в виде прогормона [Christ M, Mueller C.2008].

В организме человека, ген, который кодирует BNP, содержит три экзона. Транскрипт этого гена транслируется в preproBNP - пептид, состоящий из 134 аминокислот. Затем происходит удаление сигнального пептида из 26 аминокислот и образуется предшественник BNP (proBNP), состоящий из 108 аминокислот. Путем протеолиза proBNP расщепляется до биологически активного BNP, состоящего из 32 аминокислот и интактного N-концевого фрагмента (NT-proBNP) из 76 аминокислот. Впоследствии оба этих пептида секретируются из желудочков в периферическое кровообращение [Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K.2019]. Период полураспада BNP составляет около 22 минут, тогда как NT-proBNP имеет период полураспада от 60 до 120 минут [Christ M, Mueller C.2008].

В низких концентрациях BNP может накапливаться в предсердиях, но более высокие концентрации его обнаруживаются в желудочках сердца. BNP обычно транскрибируется по мере необходимости в ответ на стресс, а не хранится в сердечных гранулах [Potter LR.et al.2009].

Эффекты, опосредованные BNP, в основном обусловлены стимуляцией трансмембранных рецепторов, входящих в состав G-белков [Potter LR, Abbey-Nosch S, Dickey DM.2015]. Стимуляция NP-рецепторов активирует гуанилилциклазу (GC), что, в свою очередь, приводит к выработке вторичного мессенджера - циклического гуанозинмонофосфата (сGMP). Существует три типа NP-рецепторов: рецептор натрийуретического пептида-А (гуанилилциклаза-А), натрийуретический рецептор-В (гуанилилциклаза-В) и рецептор натрийуретического пептида-С (рецептор клиренса) [Potter LR, Abbey-Nosch S, Dickey DM.2005]. Матричная РНК (мРНК) рецепторов натрийуретического пептида-А человека высоко экспрессируется в почках, надпочечниках, терминальном отделе подвздошной кишки, жировой ткани, аорте и тканях легких, мРНК натрийуретического рецептора-В обнаруживается в легких, головном мозге, надпочечниках, почках, матке и яичниках, однако он является основным рецептором в головном мозге. Рецептор натрийуретического пептида-С экспрессируется в почках, при этом адипоциты являются вторым по величине участком его экспрессии и основной мишенью для эндогенных агонистов [Sarzani R.et al.2017.].

После высвобождения в кровотоки BNP оказывает различные эффекторные воздействия, основными из которых являются диурез, натрийурез и вазодилатация. Таким образом, BNP играет важную роль в регуляции кровяного давления и объема циркулирующей крови [Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H.2006]. BNP уменьшает пролиферацию фибробластов и гладкомышечных клеток, снижает симпатическую нервную активность, предотвращает задержку воды и соли, снижает высвобождение антидиуретического гормона, синтез альдостерона и его высвобождение

из надпочечников. BNP увеличивает скорость клубочковой фильтрации и почечный кровоток. А снижение за счет действия BNP высвобождения ренина и реабсорбцию натрия приводит к диурезу и натрийурезу [Burke MA, Cotts WG.2007]. Несмотря на то, что NT-proBNP не имеет подобной биологической активности, наряду с BNP ему отводится важная роль в мониторинге сердечной недостаточности и дифференциальной диагностике острых коронарных синдромов [Maries L, Manitiu I.2013].

Показано, что за счет расслабления афферентных и сужения эфферентных почечных артериол BNP повышает скорость клубочковой фильтрации (СКФ), тем самым увеличивая диурез [Levin ER, Gardner DG, Samson WK.1998].

BNP участвует в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы, контролируя клеточный рост, пролиферацию клеток и проницаемость сосудов. Он снижает ремоделирование и гипертрофию сердца, возникающие в результате долгосрочных последствий увеличения объема крови и противодействует прогрессированию сердечных заболеваний [Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H.2006].

BNP, вырабатываясь в ответ на инфаркт миокарда, подавляют нейтрофильную адгезию и высвобождение эластазы на эндотелиальных клетках, тем самым защищая от повреждения эндотелия, индуцированного нейтрофилами [Matsumura T.et al.2006.].

После ишемии миокарда и коронарной реперфузии BNP предотвращает гибель миоцитов сердца и уменьшает некроз сердечно-сосудистой ткани, стимулируя синтез цГМФ [Padilla F.et al.2001.].

Выделение BNP происходит в желудочках сердца в ответ на увеличенное давление наполнения желудочков и нагрузку на стенку желудочка [Kinnunen P.et al.1993]. Экспрессия и секреция BNP в тканях сердца увеличиваются при различных патологических состояниях.

Механический стресс стимулирует синтез и секрецию BNP как в клетках предсердий, так и желудочков. На культурах клеток кардиомиоцитов показано, что нейрогуморальные факторы, такие как эндотелин-1 - агонисты  $\alpha$ -адренорецепторов, [Nakagawa O.et al.1998] и ангиотензин II, а также ИЛ-1 $\beta$ , [Harada E.et al.1997] ИЛ-18, [Chandrasekar V.et al.2005] TNF- $\alpha$ , [de Bold AJ.2009] и TGF- $\beta$ , [Lim JY.et al.2007] индуцируют синтез BNP.

### 1.8. D-ДИМЕР

D-димер представляет собой специфический белковый продукт деградации сшитого фибрина в процессе фибринолиза. Впервые D-димер описан в 1970-е, однако его практическое диагностическое применение было найдено в 1990-е годы [Adam SS, Key NS, Greenberg CS. 2009].

Образование D-димера происходит в результате последовательного действия 3 ферментов: тромбина, активированного фактора XIII (фактор XIIIa) и пламина. Этот процесс запускается системой свертывания крови путем преобразования растворимого фибриногена в мономеры фибрина с помощью тромбина. Молекулы фибриногена представлены симметричными димерами, которые состоят из 3 пар переплетенных полипептидных цепей ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ), отходящих от центрального ядра вбок. Цепи соединены с помощью дисульфидных связей, образуя центральный домен E, объединенный с участками спиральной структуры с двумя периферическими доменами D [Hoepfich PD Jr, Doolittle RF.1983]. Мономеры фибрина образуются, когда тромбин отщепляет короткие пептиды от NH<sub>2</sub>-концов  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей фибриногена, обнажая “бугорки” в E-доменах [Mosesson M.W.et al.1985]. С помощью трансглутаминазы мономеры фибрина самопроизвольно полимеризуются впритык друг к другу, образуя двухцепочечные протофибриллы фибрина. Отдельные протофибриллы связываются и формируют фибриллы, состоящие из сотен нитей. Сеть фибрина нестабильна, так как мономеры и протофибриллы связаны

нековалентно, прочность фибрина обеспечивается фактором XIIIa. Активация этого фактора осуществляется тромбином. Фактор XIIIa сшивает D-домены соседних фибриновых мономеров и  $\alpha$ -цепи противоположных, формируя структуру D-димера и  $\alpha$ -полимеров, соответственно [Longstaff C, Kolev K..2015].

Тканевой активатор плазминогена (ТАП) превращает плазминоген в плазмин. Для активации плазминогена необходимо формирование тройного комплекса, который образуется, когда ТАП и плазминоген связываются с поверхностью фибрина. В то время как плазминоген циркулирует в плазме, ТАП высвобождается из эндотелиальных клеток в ответ на повреждение. Поэтому образование плазмина локализовано на фибрине, обеспечивая минимальную деградацию растворимого циркулирующего фибриногена. Плазмин активирует расщепление сшитой фибриновой сети на растворимые фрагменты, строительным блоком которых является комплекс, состоящий из D-димера, образованного из сшитых соседних D-доменов, нековалентно связанных с фрагментом E [Gaffney PJ, Joe F.1979].

Дальнейший протеолиз фрагмента E, опосредованный плазмином, расщепляет комплекс D-димер-E-фрагмент. После этого D-димер циркулирует в плазме, а его период полураспада составляет около 8 ч, после чего он выводится почками и ретикулоэндотелиальной системой [Hager K, Platt D.1995].

Таким образом, D-димер может образовываться только в результате образования и последующей деградации сшитого фибрина. Это обеспечивает возможность использования D-димера, как маркера активации, свертывающей и фибринолитической систем, а также в качестве косвенного маркера тромботической активности [Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW.2017].

Состояния, приводящие к тромбозу, включают механизмы, связанные с триадой Вирхова - гиперкоагуляция, повреждение эндотелия и венозный

застой [Gupta N, Zhao YY, Evans CE. 2019]. Важную роль в патогенезе гиперкоагуляционных состояний и тромбоза играют воспаление и гипоксия [Poterucha TJ, Libby P, Goldhaber SZ.2017]. Показано, что воспалительные изменения, при которых происходит постоянное высвобождение цитокинов (TNF- $\alpha$  и факторы комплемента) стимулируют повышающую регуляцию ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) и последующее нарушение фибринолиза. Кроме того, цитокины провоцируют провоспалительные метаморфозы эндотелиальных клеток, что приводит к увеличенной выработке хемоаттрактантов и молекул адгезии, используемых для активации мононуклеарных клеток и внесосудистой трансформации в макрофагах [Wan Y. et al.2020]. Циркулирующие цитокины индуцируют выработку мононуклеарами тканевого фактора (ТФ), который является инициатором внешних каскадов свертывания [Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Cervera R.2018]. Показано, что IL-6 и IL-8 стимулируют активацию тромбоцитов и таким образом участвуют в распространении и поддержании механизмов свертывания [Hook KM, Abrams CS.2012]. Продукты, образующиеся в результате процесса свертывания, за счет стимуляции лейкоцитов усиливают выработку цитокинов, IL-1 и IL-6, следовательно, косвенно задействуют механизмы свертывания [Hook KM, Abrams CS.2012.].

Гипоксические изменения, являющиеся следствием закупорки сосудов, могут стимулировать образование и распространение тромба посредством активации множества клеточных и молекулярных путей [Pugh CW, Ratcliffe PJ.2017]. При гипоксигенации усиливается ядерная димеризация факторов, индуцируемых гипоксией (HIF1 и HIF2), что приводит к последующей активации реагирующего на гипоксию элемента и транскрипции генов, кодирующих молекулы, непосредственно участвующие в коагуляционном гомеостазе, такие как PAI-1 [Gupta N, Zhao YY, Evans CE.2019]. Гипоксия приводит к выработке белка реакции раннего роста-1 (EGR-1), TNF- $\alpha$ , IL-1 и других регуляторов тромбообразования, а также уменьшает выработку

тромбомодулина, тем самым вызывая протромботические изменения и снижая фибринолитическую активность эндотелия [Gupta N, Zhao YY, Evans CE.2019].

Патогенез COVID-19 включает связывание гликопротеина оболочки вируса SARS-CoV-2 с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) [Zhang H.et al.2020]. ACE2 идентифицирован на клетках множества различных тканей, в частности эндотелия, альвеолярного и кишечного эпителия и других [Zhang Y.et al.2019]. Тропизм вируса к эндотелиальным клеткам сосудов, их последующее повреждение, совместно с интенсивной активацией воспалительных реакций и путей свертывания, могут объяснить прокоагулянтные нарушения при COVID-19 [Liu PP.et al.2020]. В результате эти повреждения могут являться предрасполагающими для последующих системных микротромботических изменений, что объясняет частоту полиорганной недостаточности, ДВС-синдрома и ОРДС у пациентов с тяжелой формой COVID-19.

При сравнении количества D-димера у пациентов с COVID-19 различной степени тяжести выявлено, что его уровни составили  $2,14 \pm 2,88$  мкг/мл ( $p < 0,001$ ),  $19,11 \pm 35,48$  мкг/мл ( $p < 0,01$ ) и  $20,04 \pm 32,39$  мкг/мл у пациентов в нетяжелом, тяжелом и критическом состоянии, при этом у здоровой контрольной группы его количество составило  $0,26 \pm 0,18$  мкг/мл [Han H. et al.2020].

На основании лабораторных данных 138 пациентов с COVID-19, среди которых 36 госпитализированы в отделение интенсивной терапии, показано, что у пациентов, находящихся в отделении интенсивной терапии уровни D-димера были выше, чем у пациентов, не находящихся в отделении интенсивной терапии ( $414$  мкг /мл в диапазоне  $191-1324$  мкг /мл, по сравнению  $166$  мкг /мл в диапазоне  $101-285$  мкг /мл;  $p < 0,001$ ). При этом динамика его количества продолжала возрастать до наступления летального исхода [Wang D.et al.2020].

Значения D-димера у пациентов с ОРДС (201 пациент, 41,8% с ОРДС, из них 52,4% умерли) были намного выше по сравнению с пациентами без ОРДС (разница между двумя группами составила 0,52 мкг/мл 95% ДИ 0,21–0,94 мкг/мл;  $p < 0,001$ ). У умерших пациентов с ОРДС уровни D-димера были значительно выше по сравнению с выжившими пациентами с ОРДС (разница между двумя группами - 2,10 мкг/мл 95% ДИ 0,89–5,27 мкг/мл;  $p < 0,001$ ). В двумерном регрессионном анализе факторов риска Кокса показано, что увеличение количества D-димера было достоверно связано с ОРДС и прогрессированием от ОРДС до смерти (отношение рисков 1,03, 95% ДИ 1,01–1,04;  $p < 0,002$ ) [Wu C.et al. 2019].

При изучении лабораторных показателей у семи пациентов с COVID-19 в отделении интенсивной терапии, у которых развилась критическая ишемия конечностей, обнаружено, что средний уровень D-димера при поступлении в отделение интенсивной терапии составил 7,3 мкг/мл (диапазон 1,25–21,00 мкг/мл). На момент возникновения ишемии конечностей медиана D-димера увеличилась более чем в 20 раз в сравнении с нормальным диапазоном, а у пяти пациентов (71,4%) уровень D-димера превысил предел обнаружения ( $> 21$  мкг/мл) [Zhang Y.et al.2020].

Изменения факторов свертывания крови и, в частности, изменения уровней D-димера, представляют собой важные диагностические критерии, коррелируют с прогнозом, осложнениями и частотой неблагоприятных исходов при COVID-19 и могут быть использованы в качестве прогностического маркера заболевания. Однако наличие сопутствующих заболеваний, связанных с клиническим исходом у пациентов с COVID-19, может представлять собой фактор, затрудняющий интерпретацию количества D-димера и других изменений параметров свертывания крови, особенно учитывая гетерогенную этиологию тромботических и тромбофилических состояний.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В имеющихся литературных источниках достоверно не установлена корреляция заболеваемости и пола человека, однако известно, что от COVID-19 умирает больше мужчин. Неблагоприятные исходы COVID-19, по-видимому, связаны с сопутствующими заболеваниями, характерными для людей старших возрастных групп, включая гипертонию, сердечно-сосудистые заболевания и заболевания легких. Эти состояния чаще встречаются у мужчин и связаны с курением и употреблением алкоголя.

На основе исследования дополнительных иммунобиохимических показателей, возможно, своевременно скорректировать лечебную тактику, что в свою очередь улучшит вероятный исход у людей среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19 и позволит уменьшить риск летальных исходов. Такие лабораторные предикторы, как С-реактивный белок, ферритин, С-реактивный белок, интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин-I у лиц среднего, пожилого и старческого возраста при госпитализации дают возможность понять некоторые особенности ответа организма на острое состояние. Данные, полученные при первичном обследовании этих групп людей легли в основу разработанного алгоритма прогнозирования риска развития неблагоприятного исхода при COVID-19 у людей среднего, пожилого и старческого возраста на основе анализа связей между несколькими независимыми переменными.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Характеристика лиц, включенных в проспективное исследование**

Клинической базой для проведения данного исследования явилось Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская многопрофильная больница № 2» в периоды подъема заболеваемости и перепрофилирования в инфекционный стационар: I период (с 30.03.2020 г. по 26.07.2020 г.), II период (с 10.11.2020 г. по 23.02.2021 г.), III период (с 20.06.2021 г. по 31.07.2021 г.). Общее количество лиц, обследованных в рамках данного исследования, составило 1464 человека с подтвержденным диагнозом COVID-19, средний возраст  $61,1 \pm 17,3$  лет, медиана возраста 61,5 (51,0; 72,0), общее количество женщин 852 (58,2%), общее количество мужчин 612 (41,8%), общее количество лиц с неблагоприятным исходом 164 (11,2%).

#### **В зависимости от возраста были выделены следующие группы:**

1 группа (35-59 лет) – 615 человек, средний возраст  $45,1 \pm 10,7$  лет; медиана возраста 47,0 (35,0; 54,5) лет, количество мужчин 361 (58,7%), количество женщины 254 (41,3%), количество лиц с неблагоприятным исходом 15 (2,5%);

2 группа (лица в возрасте 60-74 года) – 527 человек, средний возраст  $65,5 \pm 4,1$  лет, медиана возраста 65,0 (62,0; 69,3) лет, количество мужчин 279 (52,9%), количество женщин 248 (47,1%), количество лиц с неблагоприятным исходом 57 (10,8%);

3 группа (лица 75 -89 лет) – 322 человека, средний возраст  $84,8 \pm 5,5$  года, медиана возраста 84,0 (80,0; 89,0) лет, количество мужчин 102 (31,7%), количество женщин 220 (68,3%), количество лиц с неблагоприятным исходом 92 (28,6%).

Конечные точки исследования: неблагоприятный исход - летальный и/или нахождение в отделении реанимации и интенсивной терапии > 5 суток, благоприятный – выписка из стационара без нахождения в реанимационном отделении.

Всем группам лиц в стационаре проводилось подробное лабораторное обследование, включающее помимо рутинных тестов, исследование уровней ферритина, С-реактивного белка, интерлейкина-6, D-димера, прокальцитонина, мозгового натрийуретического пептида (BNP) и сердечного тропонина I.

Общее количество исследований составило 10248, все исследования были проведены при госпитализации в стационар (Таблица 1).

Таблица 1

Общее количество исследований

Показатель	Ferr	CRP	D-димер	IL-6	PCT	BNP	TNI	Итого
Кол-во исследований	1464	1464	1464	1464	1464	1464	1464	10248

## **Методы исследования**

Исследование было проведено в 3 этапа:

1. На первом этапе всем лицам среднего, пожилого и старческого возраста с COVID-19 при госпитализации в стационар исследовали уровни: ферритина, D-димера, C-реактивного белка, интерлейкина-6, прокальцитонина, мозгового натрийуретического пептида, сердечного тропонина I и определяли их значимость при диагностике коронавирусной инфекции. Проводили анализ полученных данных внутри групп по гендерному признаку.

2. На втором этапе исследования производился анализ и сравнительная оценка уровня этих показателей, получение статистически значимых различий для выявления корреляционной связи с тяжестью течения и исходом заболевания в трех возрастных группах.

3. На третьем этапе проведена оценка возможности применения этих лабораторных предикторов, подбор модели, разработка алгоритма их применения при прогнозировании исходов у людей среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19 на основе анализа связей между несколькими независимыми переменными (логистической регрессии). Проведен анализ уровня таких показателей, как: ферритин, C-реактивный белок, интерлейкин-6, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, сердечный тропонин I. Проведена оценка диагностической чувствительности и специфичности с помощью анализа ROC-кривых в этих группах людей с COVID-19.

### **2.2. Лабораторные методы исследования**

**Количественное определение уровня D-димера** проводилось на анализаторе ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory, США) с использованием иммуноанализа, усиленного латексными частицами

в человеческой цитратной плазме для оценки клинической вероятности венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у людей с подозрением на тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА). Латексный реагент в наборе D-димер представляет собой суспензию полистироловых латексных частиц одинакового размера, покрытых моноклональными антителами, высоко специфичными к D-димер домену, входящему в состав молекул растворимых производных фибрина. Когда плазму, содержащую D-димер, смешивают с латексным реагентом и буфером, входящим в состав набора, латексные частицы агглютинируют. Степень агглютинации прямо пропорциональна концентрации D-димера в образце и определяется по уменьшению светопропускания в реакционной смеси на длине волны 405 нм, вызванного образованием агрегатов (турбидиметрический иммуноанализ). Результаты D-димера выражаются в нг/мл. Эти единицы соответствуют нг/мл D-димерных единиц (D-DU).

Из-за отсутствия Международного Референсного Стандарта некоторые производители выражают результат определения D-димера в FEU (Fibrinogen Equivalent Unit – Фибриноген Эквивалентная Единица). Соотношение между этими двумя единицами измерения ориентировочно следующее: 2 нг/мл FEU ~ 1 нг/мл D-DU. Образцы биоматериала для исследования были получены путем венопункции поверхностных вен локтевого сгиба в пробирки типа Vacutainer с антикоагулянтом Na Citrate 3.8%. Девять частей свежей венозной крови собирают в пробирку с одной частью тринатрий цитрата.

Для изучения остальных иммунобиохимических показателей крови производился забор крови путем венопункции поверхностных вен локтевого сгиба в пробирки типа Vacutainer с активатором свертываемости.

**Тест MULTIGENT CRP Vario [CRP<sub>Va</sub>]** предназначен для количественного иммунотурбидиметрического определения С-реактивного белка в сыворотке и плазме крови человека при различных диапазонах теста [CRP16, CRP32, CRP48] на анализаторах ARCHИТЕСТ с Systems. MULTIGENT CRP Vario является латекс-иммуноанализом,

предназначенным для точного и воспроизводимого определения уровней CRP в сыворотке и плазме крови. Когда происходит реакция антиген-антитело между CRP в образце пациента и антитело к CRP, адсорбированном латексными частицами, в результате следует агглютинация. Эта агглютинация определяется как изменение оптической плотности (при 572 нм), при этом степень изменения пропорциональна концентрации CRP в образце. Имеются три разных метода (высокая чувствительность [CRP16], стандартный [CRP32] и широкий диапазон [CRP48]), которые покрывают широкий диапазон аналитических измерений. Методология: Турбидиметрическая/иммуотурбидиметрическая.

#### **Количественное определение уровня интерлейкина -6 (IL-6).**

Метод определения основан на трехстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моно- и поликлональных антител к IL-6. На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках с иммобилизованными моноклональными антителами. Имеющийся в образцах IL-6 связывается с иммобилизованными антителами. Связавшийся IL-6 на второй стадии взаимодействует при инкубации с конъюгатом №1 (поликлональные антитела к IL-6 человека с биотином). На третьей стадии связавшийся конъюгат №1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). Количество связавшегося конъюгата №2 определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна концентрации содержащегося в образце IL-6. Результаты выражаются в пг/мл на основании Международного стандарта ВОЗ.

**Прокальцитонин Реагенты (ARCHITECT В · R · А · Н · М · S PCT Reagent Kit) (PCT)** является двухступенчатым иммуноанализом для количественного определения PCT в сыворотке и плазме крови человека на основе технологии СМІА.

1. Смешиваются образец и парамагнитные микрочастицы, сенсibilизированные антителами к PCT. PCT, присутствующий в образце, связывается с микрочастицами, сенсibilизированными антителами к PCT.

2. После промывки добавляется акридин-меченый конъюгат антител к PCT для образования реакционной смеси.

3. После следующего цикла промывки к реакционной смеси добавляются претриггерный и триггерный растворы.

4. Получаемая в результате хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (RLU).

Между количеством PCT, присутствующим в образце, и RLU, детектированными оптикой системы ARCHИТЕСТ iSystem, существует прямая зависимость.

Метод определения **BNP** является хемилюминесцентным иммуноанализом на микрочастицах (CMIA) для количественного определения натрийуретического пептида В-типа человека (BNP) в плазме крови человека EDTA на системе ARCHИТЕСТ iSystem. Значения BNP используются в качестве вспомогательных данных при диагностике и оценке тяжести сердечной недостаточности.

Тест ARCHИТЕСТ BNP является двухступенчатым иммуноанализом для количественного определения натрийуретического пептида В-типа человека (BNP) в плазме крови человека EDTA на основе технологии CMIA.

1. На первой стадии смешиваются образец и парамагнитные микрочастицы, сенсibilизированные антителами к BNP. BNP, присутствующий в образце, связывается с микрочастицами, сенсibilизированными антителами к BNP.

2. После промывки добавляется акридин-меченый конъюгат антител к BNP для образования реакционной смеси.

3. После следующего цикла промывки к реакционной смеси добавляются претриггерный и триггерный растворы.

4. Получаемая в результате хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (RLU). Между количеством BNP, присутствующим в образце, и RLU, детектированными оптикой системы ARCHITECT iSystem, существует прямая зависимость.

**Тест ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I** является двухступенчатым иммуноанализом на определение сTnI в плазме и сыворотке крови человека с использованием технологии CMIA с гибкими протоколами анализа. Исследования уровня тропонина I проводился на иммунохемилюминесцентном анализаторе Architect i1000 (Abbott Laboratories, США), 99-й перцентиль для данного теста был уровень 0,028 нг/мл.

На первой стадии смешиваются образец и парамагнитные микрочастицы, сенсibilизированные антителами против тропонина I. Сердечный тропонин I, находящийся в образце, связывается с микрочастицами, сенсibilизированными антителами против тропонина I. После инкубации и промывки на второй стадии добавляется конъюгат антител против тропонина I, меченных акридином. После следующего цикла инкубации и промывки к реакционной смеси добавляется притриггерный и триггерный растворы. Получаемая в результате хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (RLU). Между количеством сTnI в образце и RLU, выявленных оптической системой ARCHITECT i System, существует прямая зависимость.

Концентрация сTnI рассчитывается относительно стандартной кривой, установленной калибраторами с известными концентрациями сTnI.

Тест ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I является хемилюминесцентным иммуноанализом на микрочастицах (CMIA) для количественного определения сердечного тропонина I (сTnI) в плазме и сыворотке крови человека на системе ARCHITECT i System с протоколом STA.



**ARCHITECT Ferritin** - хемилюминесцентный иммуноанализ на микрочастицах (ХИАМ), предназначенный для количественного определения ферритина в сыворотке и плазме крови человека. В анализе ARCHITECT Ferritin можно использовать сыворотку (включая сыворотку крови, собранную в пробирках с сепаратором). Количественное определение уровня ферритина в сыворотке крови проводили иммунохемилюминесцентным методом на анализаторах Architect i2000 и i1000 (Abbott, США). Реагенты Quantia Ferritin использовались для количественного определения ферритина в сыворотке крови человека на системе ARCHITECT cSystems™. ARCHITECT Ferritin – двухступенчатый иммуноанализ, предназначенный для определения наличия ферритина в сыворотке и плазме крови человека, с помощью хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (ХИАМ) и гибкого протокола анализ Chemiflex. Результаты концентрации ферритина выражаются в нанogramмах на миллилитр на основании Международного стандарта ВОЗ.

### **2.3. Статистическая обработка данных**

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 19 (USA) и Microsoft Excel. Для оценки количественных показателей на соответствие нормальному распределению использовали критерий Шапиро-Вилка. Для проверки достоверности межгрупповых различий количественных признаков использовали критерии Краскела – Уоллиса и Манна-Уитни. Сравнение номинальных данных проводили при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона и критерия Фишера при частоте встречаемого признака ниже 5. Взаимосвязь между непрерывными величинами, имеющими ненормальное распределение, оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена. Для оценки связи между непрерывными и дихотомическими параметрами применяли точечно-бисериальный коэффициент.

Оценку диагностической чувствительности и специфичности производили с использованием анализа ROC кривых, с оценкой максимальной площади под кривой. Для анализа влияния иммунобиохимических показателей на летальный исход использовали бинарную логистическую регрессию, данные выражали как отношение шансов с расчетом доверительного интервала. Для анализа выживаемости между пациентами с разным уровнем рассматриваемых показателей применяли метод Каплана-Мейера, для оценки различий между группами был проведен парный логарифмический тест. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывали при помощи медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q25; Q75). Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей (n, %).

Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  при сравнении двух групп. С учетом множественных сравнений при использовании критерия Манна-Уитни была введена поправка Бонферрони: расчет критического уровня значимости рассчитывался по формуле:  $p = 1 - 0,951/n$ , где  $n$  – количество производимых сравнений.

## **Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1. Возрастные изменения иммунобиохимических показателей в группах среднего, пожилого и старческого возрастов при сравнении благоприятного и неблагоприятного исходов**

По результатам исследования выявлено, что в группе среднего возраста (34 - 59 лет) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: ИЛ-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,044$ ) (таблица 2).

В группе пожилого возраста (60-74 года) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались у таких показателей как: ИЛ-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p = 0,004$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,022$ ) (таблица 2).

В группе старческого возраста (75 лет и старше) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: ИЛ-6 ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p < 0,001$ ) (таблица 2).

### **3.2. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах по гендерному признаку**

Статистически значимые отличия уровней ИЛ-6 ( $p = 0,019$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), были выявлены в крови у людей среднего возраста (34 – 59 лет) при сравнении групп мужского и женского пола. В группе пожилого возраста выявлены статистически значимые отличия уровней ИЛ-6 ( $p < 0,001$ ),

Ferr ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p = 0,030$ ), CRP ( $p < 0,001$ ) при сравнении исследуемых показателей крови по гендерному признаку. В группе старческого возраста выявлены статистически значимые отличия при сравнении уровней исследуемых показателей крови IL-6 ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p = 0,002$ ) у мужчин и женщин. При сравнении концентрации D-димера во всех исследуемых возрастных группах достоверных отличий получено не было (таблица 3).

### **3.3. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах среди мужчин при благоприятном и неблагоприятном исходах**

В группе среднего возраста среди мужчин (35 – 59 лет) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: IL-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,00$ ), D-димер ( $p = 0,042$ ) (таблица 4).

В группе пожилого возраста среди мужчин (60-74 года) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались у таких показателей как: IL-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,039$ ) (таблица 4).

В группе старческого возраста среди мужчин (75 лет и старше) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: IL-6 ( $p < 0,038$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ) TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,007$ ) (таблица 4).

При сравнении концентрации D-димера у мужчин во всех исследуемых возрастных группах достоверных отличий получено не было (таблица 4).

### **3.4. Сравнительная характеристика лабораторных показателей в разных возрастных группах среди женщин при благоприятном и неблагоприятном исходах**

В группе среднего возраста среди женщин (35 – 59 лет) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: П-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p = 0,002$ ), D-димер ( $p = 0,046$ ) (таблица 5).

В группе пожилого возраста среди женщин (60-74 года) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались у таких показателей как: П-6 ( $p < 0,001$ ), Ferr ( $p < 0,005$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,040$ ) (таблица 5).

В группе старческого возраста среди женщин (75 лет и старше) статистически значимые отличия при сравнении групп с благоприятным и неблагоприятным исходом по уровню исследуемых веществ в крови наблюдались по таким показателям, как: П-6 ( $p < 0,001$ ), TnI ( $p < 0,001$ ), Pct ( $p < 0,001$ ), BNP ( $p < 0,001$ ), CRP ( $p < 0,001$ ), D-димер ( $p = 0,003$ ) (таблица 5).

### **3.5. Летальный исход в разных возрастных группах у мужчин и женщин**

У лиц среднего возраста летальность в среднем составила - 2,43% (2,49% среди мужчин и 2,36% среди женщин). У лиц пожилого возраста летальный исход фиксировался в среднем у 10,67% лиц (13,26% у мужчин, 8,07% у женщин). В группе лиц старческого возраста неблагоприятный исход был максимальным и составлял в среднем 34,99% (38,24% у мужчин и

31,74% у женщин). Наибольшее отличие относительного числа летальных случаев зафиксировано среди мужчин и женщин в группе пожилого возраста (13,26% у мужчин, 8,07% у женщин). Из данных, приведенных в таблице 6, видна тенденция к увеличению числа неблагоприятных исходов с возрастом, как у мужчин, так и у женщин. В группе лиц пожилого возраста получены статистически значимые отличия по уровню смертности среди мужчин и женщин. Так уровень неблагоприятных исходов достоверно был выше у мужчин пожилого возраста (13,26%), чем у женщин той же возрастной группы (8,07%) (таблица 6).

### **3.6. Оценка уровня ферритина в разных возрастных группах при сравнении разных исходов заболевания**

Таким образом, по результатам исследования было выявлено, что уровень ферритина увеличивался на 85,9% у лиц среднего возраста, у лиц пожилого возраста на 84,3% и у лиц старческого возраста на 39,9% при неблагоприятном исходе, по сравнению с благоприятным (таблица 2). Обнаруженная особенность позволяет предположить наличие связи между описываемым показателем и патогенезом COVID-19. Вероятно, это связано с тем, что при новой коронавирусной инфекции возможно развитие такого феномена как «цитокиновый шторм», сопровождаемого мощным выбросом белков острой фазы, в том числе ферритина. В группе старческого возраста увеличение уровня ферритина при сравнении благоприятного и неблагоприятного исходов ниже (39,9%), чем в других группах по причине того, что у лиц старческой возрастной группы наблюдается феномен «возрастного десинхроноза», связанный с нейроэндокринной дисрегуляцией.

Сывороточный ферритин оценивают, как маркер острого и хронического воспаления, его уровень повышен при множестве воспалительных состояний, включая системную красную волчанку, ревматоидный артрит, хроническое заболевание почек, тиреоидит, а также COVID-19, вызванный вирусом SARS-CoV-2. Ферритин является маркером

воспаления и активации макрофагов [Ruscitti P. et al. 2020]. Гиперферритинемия (сывороточный ферритин  $\geq 500$  нг/мл) является предиктором риска развития неблагоприятных исходов, таких как дыхательная недостаточность, госпитализация в отделение интенсивной терапии или госпитальная смертность среди госпитализированных пациентов с подтвержденной инфекцией гриппа А [Lalueza A. et al. 2020]. Значительное повышение уровня ферритина в сыворотке крови может говорить об активации системы моноциты–макрофаги, которая является важнейшей частью патогенеза воспалительного цитокинового шторма. Цитокиновый шторм, представляющего собой чрезмерную неконтролируемую воспалительную реакцию, у пациентов с COVID-19, находящихся в тяжелом состоянии, становится основной причиной летального исхода [S. Dahan, G. et al. 2020].

Как и при других вирусных инфекциях, метаболизм железа помогает поддерживать врожденную иммунную систему на ранних острых стадиях инфекции SARS-CoV-2 путем снижения биодоступности железа и, как следствие, репликации вируса [Drakesmith H, Prentice A. 2008]. Изучение уровня ферритина у пациентов с COVID-19 показало корреляцию между количеством сывороточного ферритина и неблагоприятным исходом заболевания. С прогностической точки зрения уровень ферритина может служить фактором риска тяжести COVID-19. Резкое значимое повышение уровня ферритина, наряду с лимфопенией, снижением количества и активности NK-клеток, нарушениями функциональных тестов печени и коагулопатией, позволило отнести COVID-19 к заболеваниям группы гиперферритинемических синдромов [Colafrancesco S. et al. 2020]. Показано, что патогенез COVID-19 имеет сходство с синдромом активации макрофагов и катастрофическим антифосфолипидным синдромом [Shoenfeld Y. 2020]. Общая картина гиперферритинемического синдрома при COVID-19 включает сочетание высокого уровня сывороточного ферритина и опасного для жизни гипервоспаления, которое в конечном итоге

приводит к полиорганной недостаточности [Colafrancesco S. et al. 2020]. Согласно лабораторным показателям сыворотки крови у пациентов с COVID-19 уровень ферритина повышался одновременно со снижением количества лимфоцитов и высокими уровнями С-реактивного белка, что характеризует его как белок острой фазы при COVID-19. [Guan WJ. et al.2020; Goyal P.et al.2020]. Значительно более высокие уровни ферритина отмечали среди пациентов с тяжелой формой COVID-19 по сравнению с пациентами в легкой форме заболевания (2800 нг/мл и 708 нг/мл, соответственно). Уровни ферритина коррелировали с повышенным риском острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у пациентов с COVID-19 [Gandini O. et al.2020]. Это позволяет использовать значения сывороточного ферритина как показатель тяжести заболевания. Показано, что пациенты с COVID-19 и повышенным уровнем ферритина имели более длительный восстановительный период, а также более длительное пребывание в больнице [Сао P.et al.2021]. Корреляция между повышенным уровнем ферритина и госпитальной смертностью и зависимостью от инвазивной ИВЛ указывает на возможность использовать ферритин как прогностический фактор развития заболевания [Qeadan F.et al. 2021]. У пациентов с COVID-19, имеющих одно или несколько сопутствующих заболеваний, отмечали значительно более высокий уровень ферритина по сравнению с пациентами без сопутствующей патологии. Спайковый белок SARS-CoV-2 связывает рецептор ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), расположенный на поверхности эндотелиальных клеток [Ferrario CM.et al. 2005; Lu R.et al. 2020.], что в результате приводит к апоптозу эндотелия и развитию тромбоза [Varga Z.et al. 2020]. Апоптоз эндотелиальных клеток вызывает инфильтрацию иммунных клеток и дальнейшее увеличение риска тромбоза [Connors J.M., Levy J.H. 2020]. Показано, что уровни ферритина у пациентов с COVID-19 с тромботическими осложнениями выше, чем у пациентов



без них. Это свидетельствует о состоянии гипервоспаления у пациентов с тромбозом [Cheng Let al.2020].

Информативность ферритина как предиктора неблагоприятного исхода не зависит от значений других факторов, вызывающих воспаление. Так, у значительного числа пациентов уровень ферритина превышал 490 нг/мл при отсутствии повышенного уровня CRP, или прокальцитонина. Это позволяет предположить, что ферритин служит независимым предиктором ухудшения состояния и летальных исходов у пациентов, госпитализированных с тяжелой формой COVID-19 [Shakaroun DA.et al. 2022].

Примечательно, что уровень ферритина после перенесенного заболевания и клинического выздоровления может длительное время держаться на высоком уровне. Количество сывороточного ферритина – один из последних лабораторных показателей по сравнению с другими острыми белками, значение которых вернулось к норме после выздоровления. При этом С-реактивный белок обнаруживали в пределах нормальных величин за 5 дней до ферритина [Li Y.et al. 2020]. Этот факт может затруднять трактовку результатов исследований.

### **3.7. Сравнение показателей С-реактивного белка у лиц разных возрастных групп при благоприятном и летальном исходах**

Стоит отметить, что неблагоприятное течение заболевания, как правило, сопровождается декомпенсацией адаптационных механизмов, что, помимо всего прочего, сопровождается и резким возрастанием белков острой фазы. Так же С-реактивный белок статистически значимо выше у лиц с летальным исходом по сравнению с благоприятным: в группе среднего возраста на 98,5%, у лиц пожилого возраста на 93,4%, в группе старческого возраста на 70,3% соответственно (таблица 2). Таким образом, обнаруженные нами результаты подтверждают наличие воспалительной реакции в

организме. С-реактивный белок, будучи белком острой фазы, коррелирует с активностью воспалительного процесса. Кроме того, с данным веществом ряд исследователей связывает протекание процессов хронического воспаления [Ganz T., Nemeth E..2009]. Необходимо отметить, что хроническое воспаление наиболее часто встречается у людей старшей возрастной группы. Это обстоятельство является одним из факторов наличия коморбидности у лиц пожилого и старческого возраста [Кузник Б.И., Хавинсон В.Х..2020]. Воспалительные изменения и повреждение тканей, обусловленные CRP при коронавирусной инфекции (COVID-19, связаны с увеличением активности ангиотензина II (Ang II) и количества IL-6 в процессе рецептор-опосредованного эндоцитоза вируса в клетку. Ang II и IL-6 являются индукторами выработки CRP гепатоцитами. В результате индуцируется выделение провоспалительных цитокинов, окислительный стресс, сужение сосудов, фиброз и апоптоз клеток [Scott AJ.et al. 2011]. Увеличение количества CRP при COVID-19 может служить предиктором повреждения тканей и плохого прогноза заболевания. Так высокие уровни CRP на ранней стадии COVID-19 коррелировали с повреждением легких и тяжестью состояния пациента. [Rod JE, Oviedo-Trespalacios O, Cortes-Ramirez J. 2020]. Анализ изменений в тканях легких с помощью КТ показал, что высокие уровни CRP отмечали до появления признаков поражения, а прогрессирование до развития пневмонии коррелировало с последующим повышением уровня CRP. Данное обстоятельство позволяет использовать количественное определение CRP для прогностической оценки тяжести заболевания [Tan C.et al.2020]. Оценка функции дыхания и CRP показала обратную корреляцию между количеством фактором воспаления и снижением парциального давления артериального кислорода по отношению к доле вдыхаемого кислорода ( $P_{aO_2}/F_{iO_2}$ ), что предположительно свидетельствует о прогностическом значении CRP в развитии дыхательной недостаточности [Poggiali E.et al.2020]. Исследования показывают взаимосвязь CRP с другими параметрами при развитии COVID-19.

Так, высокие уровни CRP при низких уровнях альбумина связывали с повышенной смертностью [Bannaga AS.et al. 2020]. Увеличенное соотношение CRP/лимфоцитов использовали в качестве предиктора тяжести состояния в отделении интенсивной терапии [Cillóniz C.et al. 2021.]. Повышенные уровни CRP и IL-6 имели прогностическое значение тяжести COVID-19 у пациентов с артериальной гипертензией [Zhu Z.et al. 2020]. Высокие уровни CRP у умерших лиц свидетельствуют, что CRP является предиктором летальности при COVID-19 [Sahu BR.et al.2020].

Уровни CRP в крови существенно меняются в течение нескольких часов или дней в результате любых патологических изменений, связанных с повреждением тканей. У здоровых людей уровень CRP составляет от 1 до 3 мкг/мл [Yasojima K.et al.2000]. Поскольку воспаление является естественной защитной реакцией организма на повреждение тканей, повышение количества CRP связывали именно с воспалительными изменениями. Однако установлено, что уровни CRP изменяются непосредственно в ответ на наличие и степень повреждения тканей, что активирует острую фазу воспаления [McFadyen JD.et al. 2018].

### **3.8. Анализ полученных данных интерлейкина-6 у лиц средней, пожилой и старческой группах при различных исходах**

Наблюдалось достоверное увеличение уровня интерлейкина-6 при неблагоприятном исходе в группе среднего возраста, чем при благоприятном на 94,5%, у лиц пожилого возраста на 92,5%, у лиц старческого возраста на 83,6% соответственно (таблица 2). Важно подчеркнуть, что фоновая концентрация цитокинов с возрастом существенно меняется. Так, современными геронтологами сформулировано понятие – SASP-фенотип (секреторный фенотип, ассоциированный со старением) [А. В. Бородкина и др. 2018]. При SASP-фенотипе существенно повышается уровень таких провоспалительных цитокинов, как ФНО- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\alpha$ , IL-8,

причем с возрастом проявление патологического фенотипа только усиливается [Ruan et al.2020].

Гиперцитокинемия или цитокиновый шторм при COVID-19 характеризуется гипервоспалительным иммунным ответом и является одним из основных признаков заболевания [Moore J.V., June C.H. 2020]. Это совокупность воспалительных симптомов, связанных с активацией Т-клеток, макрофагов, последующим высвобождением цитокинов, и как результат, дополнительным усилением миграции и стимуляции других иммунных клеток. Повышенные уровни провоспалительных цитокинов у тяжелых пациентов могут быть использованы в качестве биомаркеров прогноза течения заболевания, а также потенциальных мишеней для терапии [Picchianti Diamanti A. et al.2020]. Показано, что цитокиновый шторм коррелирует с повреждением легких, ОРДС, полиорганной недостаточностью, необходимостью механической вентиляции легких и неблагоприятным прогнозом заболевания при COVID-19 [Herold T. et al.2020]. Наряду с повышением уровня цитокинов увеличение количества сывороточного креатинина, лактатдегидрогеназы, С-реактивного белка, прокальцитонина, ферритина, D-димера и количества лейкоцитов являются лабораторными показателями, которые предвещают дыхательную недостаточность и потребность в дополнительном кислороде у пациентов с COVID-19 [Herold T. et al. 2020]. Из всех цитокинов, опосредующих развитие цитокинового шторма, IL-6 предложен в качестве наиболее точного предиктора течения заболевания, а также смертности у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2. Кроме того, терапевтические действия, направленные на IL-6 или его передачу сигналов, показали хорошие результаты в лечении пациентов с COVID-19.

Повышенные уровни IL-6 в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 связаны с ухудшением прогноза и клинических исходов. Так, было показано, что умеренно повышенные уровни IL-6 выше 80 пг / мл были достаточны для

выявления пациентов с высоким риском дыхательной недостаточности [Herold T. et al. 2020]. Обнаружение нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2 в сыворотке крови было тесно связано с цитокиновым штормом и чрезвычайно высоким уровнем IL-6 в сыворотке [Chen X. et al. 2020]. Показано, что пожилой возраст, высокий балл при последовательной оценке органной недостаточности (SOFA), высокий ИМТ, повышенные уровни D-димеров и IL-6 повышают смертность и ухудшают прогноз у взрослых пациентов [Zhou F. et al. 2020]. Выявленные более высокие уровни IL-6 связывали с необходимостью длительного ухода у пожилых пациентов и показателями госпитальной смертности.

Среди предрасполагающих состояний диабет является одной из наиболее частых ассоциаций у пациентов с COVID-19 с уровнем смертности 16-35% [Guo W. et al. 2020]. Показано, что у пациентов с COVID-19 с диабетом выявлены повышенные уровни системного IL-6 по сравнению с пациентами без диабета [Zhu L. et al. 2020].

Имеются данные, свидетельствующие о связи между уровнями циркулирующего в сыворотке IL-6 и артериальным давлением. Повышенное количество IL-6 напрямую коррелирует с гипертонией]. При этом пациенты с артериальной гипертензией и COVID-19, у которых выявляют повышение уровня IL-6, очень восприимчивы к тяжелой дыхательной недостаточности [Zheng Y.Y. et al. 2020].

Исследования показали, что уровни IL-6 были значительно выше у мужчин по сравнению с женщинами. При этом у большего числа мужчин наблюдалась лимфопения [Gu Y. et al. 2021]

**Уровень исследуемых показателей крови у людей среднего, пожилого и старческого возраста в зависимости от исхода заболевания при COVID-19**

Me (Q25; Q75)	35-59 лет (n=615)		Уровень значимости, p	60-74 года (n=527)		Уровень значимости, p	75-89 лет (n=322)		Уровень значимости, p
	Исход благ. (n=600)	Исход неблаг. (n=15)		Исход благ. (n=470)	Исход неблаг. (n=57)		Исход благ. (n=230)	Исход неблаг. (n=92)	
<b>П-6</b> нг/мл	1,50 (0; 8,00)	27,20 (18,10; 50,11)	p<0,001	5,0 (0,0; 23,0)	67,0 (19,1; 123,0)	p<0,001	12,0 (3,3; 44,5)	73,0 (34,2; 276,3)	p<0,001
<b>Ferr</b> нг/мл	332,98 (121,20; 625,64)	1896,22 (678,66; 2384,84)	p<0,001	328,3 (197,68; 838,5)	2090,76 (562,47; 6369,35)	p<0,001	366,3 (154,9; 709,9)	609,9 (158,1; 1957,5)	p<0,001
<b>TnI</b> нг/мл	2,30 (1,10; 4,31)	48,70 (39,55; 1562,55)	p<0,001	4,50 (2,0; 13,1)	68,4 (26,8; 102,2)	p<0,001	10,6 (5,5; 20,7)	107,5 (46,5; 1297,2)	p<0,001
<b>Pct</b> нг/мл	0,03 (0,02; 0,06)	0,81 (0,72; 0,95)	p<0,001	0,05 (0,03; 0,10)	0,38 (0,26; 21,02)	p<0,001	0,07 (0,03; 0,17)	0,40 (0,21; 1,20)	p<0,001
<b>BNP</b> нг/мл	0,10 (0,10; 0,10)	0,20 (0,10; 24,00)	p<0,001	13,2 (0,10; 25,5)	54,1 (11,4; 300,1)	p=0,004	32,5 (12,9; 52,7)	92,8 (61,2; 277,6)	p<0,001
<b>CRP</b> мг/дл	0,44 (0,17; 1,88)	32,29 (27,01; 34,90)	p<0,001	1,21 (0,38; 6,43)	18,30 (14,96; 27,25)	p<0,001	3,93 (0,65; 10,41)	13,22 (9,31; 16,89)	p<0,001
<b>D -dim</b> нг/мл	522 (327,75; 970)	849 (643; 1764)	p=0,044	578 (405,75; 1586,25)	905,5 (652; 1948)	p=0,022	937 (693,5; 2069)	1512 (661; 2531)	p<0,001

**Уровень исследуемых показателей крови у людей среднего, пожилого и старческого возраста в зависимости от пола при COVID-19**

Me (Q25; Q75)	35-59 лет (n=615)		Уровень значимости, p	60-74 года (n=527)		Уровень значимости, p	75-89 лет (n=322)		Уровень значимости, p
	мужчины (n=361)	женщины (n=254)		мужчины (n=279)	женщины (n=248)		мужчины (n=102)	женщины (n=220)	
<b>П-6</b> нг/мл	2,6 (0; 16,92)	1,1 (0; 4,17)	p=0,019	8,65 (3,2; 63,6)	4,6 (0; 16,4)	p <0,001	9,55 (3,07; 44,00)	33,10 (7,10; 63,00)	p <0,001
<b>Ferr</b> нг/мл	553,5 (310,28; 1038,28)	130,31 (76,65; 332,32)	p <0,001	710,6 (223,06; 2080,59)	310,61 (189,87; 616,54)	p <0,001	564,75 (158,46; 1145,60)	369,24 (156,27; 690,20)	p=0,195
<b>TnI</b> пг/мл	2,7 (1,75; 4,3)	1,85 (0,425; 4,52)	p <0,001	5,25 (1,92; 21,72)	5,6 (2,1; 16,77)	p=0,707	19,50 (5,75; 57,90)	17,40 (7,50; 41,00)	p=0,528
<b>Pct</b> нг/мл	0,05(0,03 ; 0,15)	0,02 (0,01; 0,03)	p <0,001	0,06 (0,03; 0,24)	0,05 (0,02; 0,09)	p=0,030	0,12 (0,04; 0,72)	0,11 (0,05; 0,21)	p=0,251
<b>BNP</b> пг/мл	0,10 (0,1; 12,3)	0,10 (0,1; 5,5)	p <0,001	11,95 (0,1; 35,47)	15,35 (0,1; 36,37)	p=0,074	39,20 (16,30; 86,45)	37,30 (19,40; 113,75)	p=0,114
<b>CRP</b> мг/дл	0,81 (0,19;6,80)	0,36 (0,19;9,91)	p <0,001	2,42 (0,80;18,94)	0,92 (0,31; 10,74)	p <0,001	4,15 (0,55;7,31)	7,66 (1,98;14,77)	p=0,002
<b>D-dim</b> нг/мл	832 (622; 1668)	838,5 (670,75; 1969,75)	p=0,217	924 (649; 2126)	850,5 (631; 1858,25)	p=0,069	1233 (707; 2522)	1020 (689,5; 2481,75)	p=0,189

**Уровень исследуемых показателей крови у мужчин среднего, пожилого и старческого возраста в зависимости от исхода заболевания при COVID-19**

Me (Q25; Q75)	35-59 лет (n=361)		Уровень значимости, p	60-74 года (n=279)		Уровень значимости, p	75-89 лет (n=102)		Уровень значимости, p
	Исход благ. (n=352)	Исход неблаг. (n=9)		Исход благ. (n=242)	Исход неблаг. (n=37)		Исход благ. (n=63)	Исход неблаг. (n=39)	
<b>П-6</b> нг/мл	2,1 (0; 16,925)	27,2 (11,1; 65,1)	p<0,001	5,65 (2,0; 30,5)	67,0 (19,1; 83,0)	p<0,001	9,00 (3,075; 18,025)	41,05 (7,4; 92,25)	p=0,038
<b>Ferr</b> нг/мл	543,5 (310,2825; 889,2825)	2384,2 (574,665; 2966,845)	p<0,001	510,6 (223,0; 1393,0)	2411,73 (1705,56; 6369,35)	p<0,001	264,725 (158,46; 765,0025)	1105,345 (693,9075; 1513,0475)	p<0,001
<b>TnI</b> пг/мл	2,7 (1,65; 4,3)	36,7 (30,55; 1729,55)	p<0,001	4,25 (2,32; 10,90)	61,7 (26,8; 100,4)	p<0,001	13,35 (5,50; 20,20)	57,9 (51,52; 1556,2)	p<0,001
<b>Pct</b> нг/мл	0,05 (0,03; 0,12)	0,80 (0,76; 1,01)	p<0,001	0,04 (0,03; 0,11)	0,34 (0,26; 20,28)	p<0,001	0,09 (0,04; 0,12)	0,51 (0,29; 0,96)	p<0,001
<b>BNP</b> пг/мл	0,10 (0,1; 13,8)	0,10 (0,10; 62,00)	p=0,224	10,95 (0,10 ;23,45)	35,3 (11,4; 197)	p<0,001	34,9 (12,9; 49,85)	81,75 (18,57; 86,45)	p=0,508
<b>CRP</b> мг/дл	0,69 (0,17; 5,68)	29,32 (27,01; 32,23)	p<0,001	2,07 (0,41; 6,46)	18,3 (14,96; 27,28)	p<0,001	1,89 (0,55; 4,75)	16,72 (4,31; 16,92)	p<0,001
<b>D-dim</b> нг/мл	521 (322; 968)	828 (601,75; 1938,25)	p=0,042	557 (466; 1344)	867 (608; 1408)	p=0,039	818 (608; 2035)	1333 (726; 2604)	p=0,007



**Уровень исследуемых показателей крови у женщин среднего, пожилого и старческого возраста в зависимости от исхода заболевания при COVID-19**

Me (Q25; Q75)	35-59 лет (n=254)		Уровень значимости, p	60-74 года (n=248)		Уровень значимости, p	75-89 лет (n=220)		Уровень значимости, p
	Исход благ. (n=248)	Исход неблаг. (n=6)		Исход благ. (n=228)	Исход неблаг. (n=20)		Исход благ. (n=167)	Исход неблаг. (n=53)	
<b>П-6</b> нг/мл	1,1 (0; 4,18)	35,5 (21,2; 65,7)	p <0,001	4,0 (0; 14,4)	91,5 (33,25; 150,75)	p <0,001	17,5 (5,8; 45,0)	85,0 (37,6; 330,2)	p <0,001
<b>Ferr</b> нг/мл	132,07 (73,65; 339,32)	2025,2 (1094,4; 2556,7)	p <0,001	299,61 (179,87; 616,54)	599,60 (561,03; 638,17)	p=0,005	377,74 (156,27; 690,20)	551,48 (237,44; 1957,49)	p=0,039
<b>TnI</b> нг/мл	1,80 (0,42; 4,52)	44,0 (37,85; 418,21)	p <0,001	5,0 (2,1; 15,7)	103,5 (68,9; 391,05)	p <0,001	10,5 (5,5; 21,35)	130,7 (44,95; 749,87)	p <0,001
<b>Pct</b> нг/мл	0,02 (0,01; 0,03)	0,76 (0,65; 0,85)	p <0,001	0,03 (0,02; 0,08)	0,90 (0,39; 0,98)	p <0,001	0,065 (0,03; 0,170)	0,277 (0,197; 1,297)	p <0,001
<b>BNP</b> нг/мл	0,1 (0,1; 0,1)	0,3 (0,1; 29,75)	p=0,002	14,35 (0,10; 33,37)	381,40 (54,10; 708,75)	p <0,001	26,6 (15,4; 51,95)	113,25 (68,97; 279,57)	p <0,001
<b>CRP</b> мг/дл	0,36 (0,19; 0,95)	33,12 (29,03; 36,32)	p <0,001	0,85 (0,43; 9,51)	31,84 (15,85; 48,27)	p <0,001	4,45 (0,81; 15,21)	13,06 (11,69; 14,79)	p <0,001
<b>D-dim</b> нг/мл	523 (298; 1076)	819 (641; 1862)	p=0,046	571 (434; 1675)	828 (586; 1811)	p=0,040	987,50 (654; 2153)	1437 (779 2531)	p=0,003

**Исходы заболевания COVID -19 у лиц среднего, пожилого и старческого возраста в зависимости от пола**

N	Мужчины		Женщины	
	Исход благ.	Исход неблаг.	Исход благ.	Исход неблаг.
<b>35-59 лет</b>	352 (97,51%)	9 (2,49%)	248 (97,64%)	6 (2,36%)
<b>60-74 года</b>	242 (86,74%)	37 (13,26%)*	228 (91,23%)	20 (8,07%)*
<b>75-89 лет</b>	63 (61,71%)	39 (38,24%)	167 (68,26%)	53 (31,74%)

\*p <0.05, статистически значимый результат

Оценка концентрации факторов воспаления в зависимости от возраста выявила однозначную восходящую тенденцию, что было характерно для всех рассмотренных показателей. Сравнительная оценка уровня этих маркеров в зависимости от исхода заболевания продемонстрировала статистически значимые различия. Так, концентрация абсолютно всех рассмотренных факторов воспаления была на порядок выше у лиц с неблагоприятным исходом COVID-19. Важно отметить, что, несмотря на защитные физиологические свойства воспалительных реакций, чрезмерная активация процессов воспаления чаще предопределяет неблагоприятный исход заболевания. К тому же гиперреактивность организма достаточно часто сопровождается феноменом «цитокинового шторма», приводящего к необратимым повреждениям органов и тканей [Кузник Б.И., Хавинсон В.Х. 2020]. Принимая во внимание наличие «фонового» хронического воспаления у людей старшей возрастной категории, возникает необходимость в оценке показателей воспалительных реакций для возможности прогнозирования и выбора тактики лечения у данного контингента.

**3.9. Оценка уровня D-димера в разных возрастных группах при благоприятном и неблагоприятном исходах**

Уровень D-димера при неблагоприятном исходе заболевания выше, чем при благоприятном у лиц среднего возраста на 38,5%, у лиц пожилого возраста на 36,1% у лиц старческого возраста на 38,0% соответственно. Так

как D-димер является продуктом деградации фибриногена, другого острофазного белка, то такие результаты можно объяснить тем, что уровень фибриногена статистически значимо повышается при развитии процессов альтерации и экссудации воспалительной реакции, что является одной из причин возрастания концентрации D-димера при воспалительных реакциях [Jacobs A. et al.1972].

Патогенез COVID-19 включает связывание гликопротеина оболочки вируса SARS-CoV-2 с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) [Zhang H. et al.2020]. ACE2 идентифицирован на клетках множества различных тканей, в частности эндотелия, альвеолярного и кишечного эпителия и других [Zhang Y. et al.2019]. Тропизм вируса к эндотелиальным клеткам сосудов, их последующее повреждение, совместно с интенсивной активацией воспалительных реакций и путей свертывания, могут объяснить прокоагулянтные нарушения при COVID-19 [Liu PP. et al.2020]. В результате эти повреждения могут являться предрасполагающими для последующих системных микротромботических изменений, что объясняет частоту полиорганной недостаточности, ДВС-синдрома и ОРДС у пациентов с тяжелой формой COVID-19.

D-димер, являясь косвенным маркером активной коагуляции и образования тромбина, позволяет контролировать эндovasкулярные тромботические процессы при COVID-19 [Linkins LA, Takach Lapner S.2020].

Ретроспективный анализ результатов обычной коагуляции и исходов у 183 пациентов показал, что средние уровни D-димера у пациентов с летальным исходом (2.12 мкг/мл (0.77-5.27)) были выше по сравнению с выжившими, у которых его количество составило 0.61 мкг/мл (0.35–1.29) [Tang N, Li D, Wang X, Sun Z.2020]

В ретроспективном исследовании среди когорты из 799 пациентов, среди которых проанализированы лабораторные данные 113 умерших и 161 выздоровевших пациентов с диагнозом COVID-19 показано, что количество D-димера было существенно выше у пациентов с летальным исходом

(4,6 мкг / мл), чем у выздоровевших пациентов (0,6 мкг / мл) [Chen T. et al. 2020].

На основании метаанализа данных о 1099 пациентах с лабораторно подтвержденным COVID-19 продемонстрировано, что повышение уровня D-димера  $\geq 0,5$  мкг / мл было выше у пациентов с тяжелыми формами заболевания, по сравнению с нетяжелыми (59.6% и 43.2% соответственно [Guan WJ. et al. 2020].

При сравнении количества D-димера у пациентов с COVID-19 различной степени тяжести выявлено, что его уровни составили  $2,14 \pm 2,88$  мкг/мл ( $p < 0,001$ ),  $19,11 \pm 35,48$  мкг/мл ( $p < 0,01$ ) и  $20,04 \pm 32,39$  мкг/мл у пациентов в нетяжелом, тяжелом и критическом состоянии, при этом у здоровой контрольной группы его количество составило  $0,26 \pm 0,18$  мкг/мл [Han H. et al. 2020].

На основании лабораторных данных 138 пациентов с COVID-19, среди которых 36 госпитализированы в отделение интенсивной терапии, показано, что у пациентов, находящихся в отделении интенсивной терапии уровни D-димера были выше, чем у пациентов, не находящихся в отделении интенсивной терапии (414 мкг /мл в диапазоне 191-1324 мкг /мл, по сравнению 166 мкг /мл в диапазоне 101-285 мкг /мл;  $p < 0,001$ ). При этом динамика его количества продолжала увеличиваться до наступления летального исхода [Wang D. et al. 2020].

Значения D-димера у пациентов с ОРДС (201 пациент, 41,8% с ОРДС, из них 52,4% умерли) были значительно выше по сравнению с пациентами без ОРДС (разница между двумя группами составила 0,52 мкг/мл 95% ДИ 0,21–0,94 мкг/мл;  $p < 0,001$ ). У умерших пациентов с ОРДС уровни D-димера были значительно выше по сравнению с выжившими пациентами с ОРДС (разница между двумя группами - 2,10 мкг/мл 95% ДИ 0,89–5,27 мкг/мл;  $p < 0,001$ ). В двумерном регрессионном анализе факторов риска Кокса показано, что увеличение количества D-димера было достоверно связано

с ОРДС и прогрессированием от ОРДС до смерти (отношение рисков 1,03, 95% ДИ 1,01–1,04;  $p < 0,002$ ) [Wu C. et al. 2019].

Наличие сопутствующих заболеваний, связанных с клиническим исходом у пациентов с COVID-19, может представлять собой фактор, затрудняющий интерпретацию количества D-димера и других изменений параметров свертывания крови, особенно учитывая гетерогенную этиологию тромботических и тромбофилических состояний.

#### **4.0. Сравнение показателей прокальцитонина в разных возрастных группах при благоприятном и летальном исходах**

Наблюдалось, что уровень прокальцитонина при неблагоприятном исходе выше, чем при благоприятном у лиц среднего возраста на 96,3%, у лиц пожилого возраста на 86,8%, у лиц старческого возраста на 82,5% соответственно. Обнаруженные особенности могут быть связаны с рядом причин. Широко известно, что продукция ПКТ индуцируется в ответ на воздействие определенных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6), поступающих в системный кровоток [Huang L.H..2019]. Такие результаты могут быть также связаны с более частым присоединением вторичной бактериальной инфекции (маркером которой и является ПКТ) и, как следствие, развитие неблагоприятных исходов, что наиболее актуально для лиц пожилого возраста с ослабленной иммунной системой. Это требует дальнейших исследований с применением микробиологических подходов определения микробного пейзажа соответствующего контингента больных. Прогностическая значимость определения концентрации ПКТ дает возможность корректировать тактику проведения дальнейших диагностических исследований или применения иных терапевтических подходов, способствует принятию решения о целесообразности и необходимости и продолжительности проведения антибактериальной терапии (с учетом эффективности), что обуславливает сроки выписки. Обнаруженные результаты согласуются с данными научной литературы

в данной области [Huang L.H..2019]. При инфекциях с высокой степенью тяжести повышенные уровни ПКТ в процессе проведения антимикробной терапии имеют важное значение, особенно у людей пожилого и старческого возраста.

#### **4.1. Исследование показателей мозгового натрийуретического пептида при благоприятном и неблагоприятном исходах в разных возрастных группах**

Выявлено, что уровень BNP при неблагоприятном исходе у лиц среднего возраста выше, чем при благоприятном исходе на 50%; у лиц пожилого возраста на 75.6%, у лиц старческого возраста на 65.0% соответственно. Натрийуретический пептид В-типа (BNP) считается вазоактивным гормоном, синтезируемым в клетках миокарда. Данное биологически активное вещество является показателем морфофункционального состояния сердечно-сосудистой системы. Статистически значимое повышение уровня BNP в крови при COVID-19 имеет явно возраст-ассоциированный характер [Knight S.R. et al .2020]. Данному феномену способствует, как правило, анамнез людей старшей возрастной группы, отягощенный такими заболеваниями, как атеросклероз, хроническая сердечная недостаточность, артериальная гипертензия. Наличие хронических болезней системы кровообращения у лиц пожилого и старческого возраста однозначно отягощает течение новой коронавирусной инфекции. BNP и NT-proBNP являются маркерами сердечной недостаточности, однако их уровни могут повышаться при ряде других сердечно-сосудистых заболеваний. Типичные пороговые значения позволяют проводить диагностику между острой (ОСН) и хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Уровень BNP при ХСН составляет 35 пг / мл, а для NT-proBNP 125 пг / мл, тогда как при ОСН выявляют более высокие значения (BNP > 100 пг / мл и NT-proBNP > 300 пг /мл) [Ponikowski P.et al.2016] При этом имеются возрастные особенности, так при

острой СН пороговые значения для NT-proBNP 450, 900 и 1800 пг / мл в возрасте <50, от 50 до 75 и > 75 лет, соответственно, обладают высокой чувствительностью и специфичностью [Januzzi JL.et al.2006].

Наличие циркулирующих BNP и NT-proBNP у пациентов с COVID-19 объясняют несколькими факторами. Прямое повреждение ткани миокарда в результате окислительного стресса и активации воспалительной системы в патогенезе COVID-19 приводит к нарушению сократительной активности сердца и, как следствие, увеличению нагрузки на стенку желудочка. Использование искусственной вентиляции легких и вазопрессорных средств у пациентов в критическом состоянии увеличивает нагрузку на стенку миокарда [Pranata R.et al.2020]. Помимо этого, легочная гипертензия, вызванная гипоксией, еще больше усугубляет стресс стенки миокарда, увеличивая постнагрузку правого желудочка. Кроме того, острое повреждение почек, которое выявлялось у 25% пациентов с COVID-19 в критическом состоянии, может снижать клиренс натрийуретических пептидов и повышать его уровень в сыворотке крови [Sorrentino S.et al.2020].

На основании данных мета-анализа, в который были включены 967 пациентов с пневмонией COVID-19 из 6 исследований, показано, что повышенный уровень NT-proBNP был связан с повышенной смертностью (ОР 3,63 (95% ДИ 2,21–5,95) [Pranata R.et al.2020]. При исследовании прогностического значения NT-proBNP на летальность у пациентов с тяжелой формой COVID-19 показано, что пациенты с высокими уровнями NT-proBNP (> 88,64 пг/мл) имели значительно повышенный риск смерти по сравнению с пациентами с низкими уровнями ( $\leq$ 88,64 пг/мл) [Gao L.et al.2020].

В ретроспективном исследовании лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 выявлено, что концентрации NT-proBNP были существенно выше у умерших (800,0 пг / мл), чем у выздоровевших пациентов (72,0 пг / мл) [Chen T.et al.2020].

Кроме того, повышенное количество NT-proBNP, как биомаркера сердечной недостаточности у госпитализированных пациентов с COVID-19, отмечали одновременно с повышением уровня сTn (1689 против 139 пг / мл) [Shi S.et al.2020].

В ретроспективном исследовании 3219 госпитализированных пациентов с диагностированным COVID-19 коэффициент риска 28-дневной смертности для NT-proBNP составил 5,11 ([95% ДИ, 3,50-7,47] P<0,001) [Qin JJ.et al.2020]. Все это подтверждает прогностическую значимость определения уровней BNP у пациентов с COVID-19. Однако количество BNP и NT-proBNP может увеличиваться с возрастом и других сопутствующих заболеваниях, включая почечную недостаточность и ХСН, что снижает информативность у пожилых коморбидных пациентов.

#### **4.2. Оценка и сравнение уровней тропонина у лиц средней, пожилой и старческой групп при разных исходах заболевания**

Аналогичная картина была справедлива и по отношению к сердечному тропонину-I. Так, уровень тропонина I при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 93,7% по сравнению со значениями при благоприятном исходе заболевания, у лиц пожилого возраста на 93,4%, у лиц старческого возраста на 90,1% соответственно. Данное вещество также неразрывно связано с циркуляторной системой организма. В настоящее время доказано, что при инфаркте миокарда имеет место повышение концентрации высокочувствительного тропонина I. Кроме того, показано, что чувствительность данного теста превышает диагностические возможности некоторых «классических» инструментальных методов, в частности, электрокардиографии. Обнаруженный высокий уровень сердечного тропонина I в крови при неблагоприятном исходе COVID-19 является перспективным прогностическим фактором своевременного выявления тяжелого течения инфекционного заболевания, что особенно актуально среди лиц старшей возрастной категории [Волчков В.А. et al.2021].



Риск развития острого повреждения миокарда, ишемии и инфаркта после перенесенной острой вирусной или бактериальной инфекции является частым явлением и, предположительно, связан с повышенным воспалительным, протромботическим и прокоагулянтным состоянием [Musher DM, Abers MS, Corrales-Medina VF. 2019]. Лабораторные данные исследований у пациентов с COVID-19 подтверждают взаимосвязь между тяжестью заболевания, повышением уровня воспалительных и протромботических биомаркеров и повреждением миокарда. [Chen T. et al. 2020]. Однако вопрос, является ли воспаление причиной острого повреждения миокарда или реакцией на это повреждение, остается открытым.

Одни из первых исследований у пациентов с диагнозом COVID-19 показали повреждение миокарда, связанное с SARS-CoV-2, при этом в 12% случаев уровень высокочувствительного тропонина I (hs-cTnI) превышал порог 28 нг / мл [Huang C. et al. 2020]. Последующие исследования показали, что повышение уровня тропонина, связанное с повреждением миокарда, возникает у 7-17% пациентов, госпитализированных с COVID-19, и у 22-31% поступивших в отделение интенсивной терапии (ОИТ) [Zhou F. et al. 2020]. Повышенный уровень сТn, основанный на пороговом значении 28 нг / л на начальных этапах госпитализации имел высокую корреляцию с госпитальной смертностью (отношение шансов 80; 95% доверительный интервал (ДИ): 10-620).

При анализе зависимости повреждения миокарда, выявленного при поступлении, с риском госпитальной смертности продемонстрировано, что из 416 пациентов, госпитализированных с COVID-19, у 82 начальные значения сТnI были выше верхнего референтного уровня (ВРУ), что свидетельствует о том, что у 19,7% исследуемой когорты имелись признаки повреждения миокарда. При этом у пациентов с повышенными уровнями сТnI развилось более тяжелое заболевание по нескольким показателям,

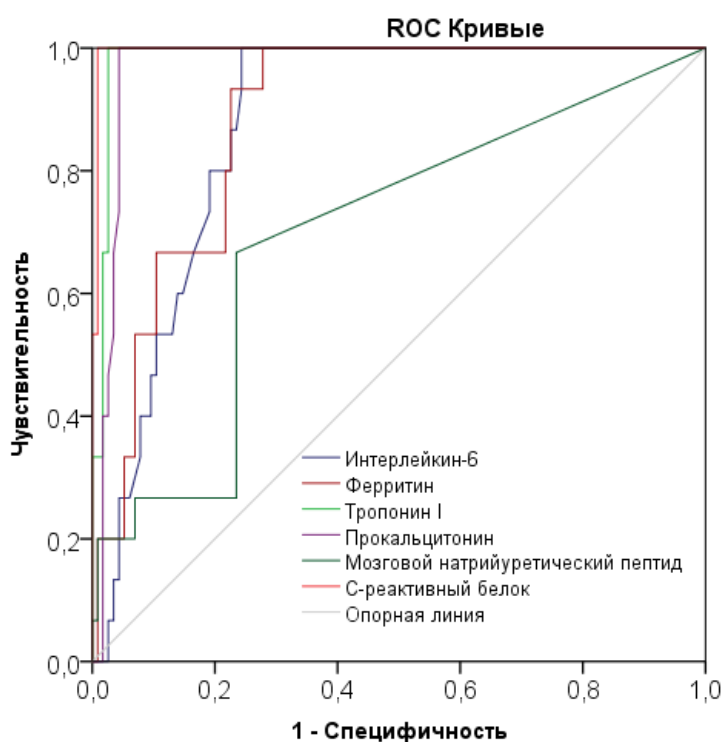
включая смертность: 42 летальных случая из 82 (51,2%) против 15 из 334 (4,5%) [Shi S. et al. 2020].

При рассмотрении гендерного признака, из имеющихся литературных данных достоверно неизвестно, женщины или мужчины чаще заражаются, но от COVID-19 умирает больше мужчин. Неблагоприятные исходы COVID-19, по-видимому, связаны с сопутствующими заболеваниями, характерными для людей старших возрастных групп, включая гипертонию, сердечно-сосудистые заболевания и заболевания легких. Эти состояния чаще встречаются у мужчин и связаны с курением и употреблением алкоголя — поведением, связанным с мужскими нормами [Lancet T. 2020.]. Так согласно полученным нами данным в группе среднего возраста статистически значимых отличий при сравнении смертности между мужчинами и женщинами не обнаружено. Однако в группе лиц пожилого возраста имеются статистически значимые отличия: неблагоприятные исходы среди мужчин составляют 13,26%, женщин 8,07%. Это можно объяснить тем, что женская иммунная система действует иначе, чем мужская и создает более сильный иммунный ответ, ведущий к элиминации вируса. Также уровень выработки антител выше у женщин по сравнению с мужчинами и сохраняется дольше [Jin J. M. et al. 2020]. В группе старческого возраста статистически значимых отличий при сравнении смертности между мужчинами и женщинами также не обнаружено.

## 5. Разработка алгоритма применения лабораторных предикторов для прогнозирования исходов у лиц среднего, пожилого и старческого возраста при COVID-19

### 5.1. ROC-кривые чувствительности и специфичности прогностических факторов у лиц разных возрастных групп с COVID-19

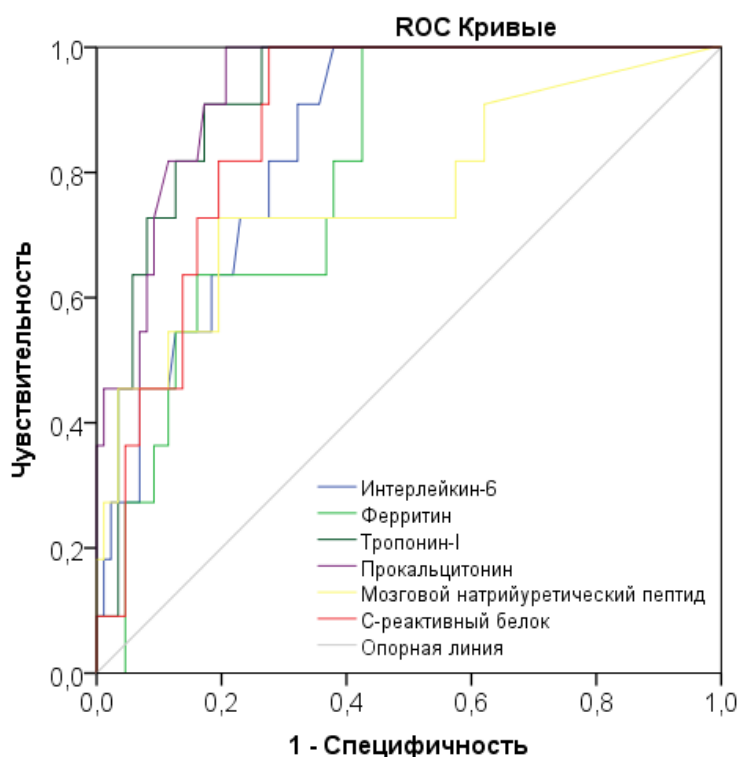
С целью определения чувствительности и специфичности биохимических показателей в качестве предикторов неблагоприятного исхода заболевания у лиц среднего, пожилого и старческого возраста был проведен анализ ROC-кривых (рисунки 1,2,3).



**Рисунок 2. ROC-кривые чувствительности и специфичности прогностических факторов у лиц среднего возраста (34-59 лет) с COVID-19**

Согласно данным ROC-анализа площадь под кривой (AUC) для интерлейкина-6 составила 0,876, пороговое значение – 11,5 нг/мл с чувствительностью 93,3% и специфичностью 75,7%. Для ферритина площадь под кривой (AUC) составила 0,886, пороговое значение – 569,31 нг/мл с

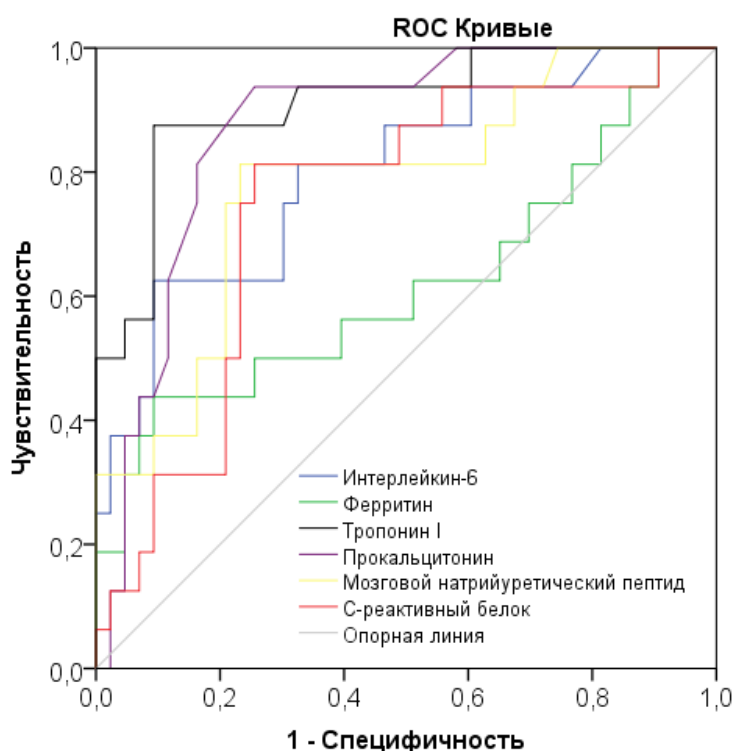
чувствительностью 93,3% и специфичностью 72,2%. Для тропонина I площадь под кривой (AUC) составила 0,986, пороговое значение – 32.7 пг/мл с чувствительностью 93,3% и специфичностью 97,4%. Для прокальцитонина площадь под кривой (AUC) составила 0,970, пороговое значение – 0,625 нг/мл с чувствительностью 93,3% и специфичностью 95,7%. Для мозгового натрийуретического пептида площадь под кривой (AUC) составила 0,694, пороговое значение – 5,35 пг/мл с чувствительностью 26,7% и специфичностью 76,5%. Для С-реактивного белка площадь под кривой (AUC) составила 0,996, пороговое значение – 26,96 мг/дл с чувствительностью 86,7% и специфичностью 99,1%.



**Рисунок 3. ROC-кривая чувствительности и специфичности прогностических факторов у лиц пожилого возраста (60-74 лет) с COVID-19**

Согласно данным ROC-анализа площадь под кривой (AUC) для интерлейкина-6 составила 0,848, пороговое значение – 18,5 нг/мл с чувствительностью 81,8% и специфичностью 72,5%. Для ферритина площадь

под кривой (AUC) составила 0,797, пороговое значение – 540,31 нг/мл с чувствительностью 81,8% и специфичностью 62,6%. Для тропонина I площадь под кривой (AUC) составила 0,918, пороговое значение – 19.3 пг/мл с чувствительностью 90,9% и специфичностью 83,5%. Для прокальцитонина площадь под кривой (AUC) составила 0,934, пороговое значение – 0,250 нг/мл с чувствительностью 81,8% и специфичностью 89,0%. Для мозгового натрийуретического пептида площадь под кривой (AUC) составила 0,765, пороговое значение – 34,65 пг/мл с чувствительностью 72,7% и специфичностью 80,2%. Для С-реактивного белка площадь под кривой (AUC) составила 0,875, пороговое значение – 14,625 мг/дл с чувствительностью 81,8% и специфичностью 80,5%.



**Рисунок 4. ROC-кривая чувствительности и специфичности прогностических факторов воспаления у лиц старческого возраста (75-89 лет) с COVID-19**

Согласно данным ROC-анализа площадь под кривой (AUC) для интерлейкина-6 составила 0,801, пороговое значение – 32,5 нг/мл с

чувствительностью 72,2% и специфичностью 66,7%. Для ферритина площадь под кривой (AUC) составила 0,618, пороговое значение – 320,31 нг/мл с чувствительностью 54,8% и специфичностью 52,6%. Для тропонина I площадь под кривой (AUC) составила 0,911, пороговое значение – 24.85 пг/мл с чувствительностью 77,8% и специфичностью 86,7%. Для прокальцитонина площадь под кривой (AUC) составила 0,872, пороговое значение – 0,18 нг/мл с чувствительностью 83,3% и специфичностью 80,0%. Для мозгового натрийуретического пептида площадь под кривой (AUC) составила 0,780, пороговое значение – 55,75 пг/мл с чувствительностью 77,2% и специфичностью 77,8%. Для С реактивного белка площадь под кривой (AUC) составила 0,747, пороговое значение – 8,155 мг/дл с чувствительностью 81,3% и специфичностью 74,4%.

## **5.2. Факторы, вошедшие в модель регрессии и влияющие на развитие неблагоприятного исхода заболевания у разных возрастных групп**

На основании уровней чувствительности и специфичности были отобраны наиболее прогностически эффективные показатели. Формирование прогностических моделей реализовалось с применением многофакторной логистической регрессии с пошаговым исключением переменных в модель, оказывающих значительное воздействие на свойство математической модели. Проведенный анализ показал, что фактором, вошедшим в модель регрессии и влияющим на развитие неблагоприятного исхода заболевания у пациентов средней возрастной группы (34-59 лет), были следующие показатели: интерлейкин-6 и прокальцитонин (рисунок 4). Для лиц пожилого возраста (60-74 года) к таковым отнесены тропонин I, прокальцитонин и С-реактивный белок (рисунок 5). Для людей старческого возраста (75-89 лет) к прогностически значимым показателям отнесены: интерлейкин-6 и тропонин I (рисунок 6).

Для группы среднего возраста (34-59 лет) получено стандартное уравнение регрессии:  $y = -4,477 + a \times 0,007 + b \times 2,056$ . Вероятность того, что

событие произойдет ( $p$ , принимает значение от 0 до 1) вычисляется по формуле:

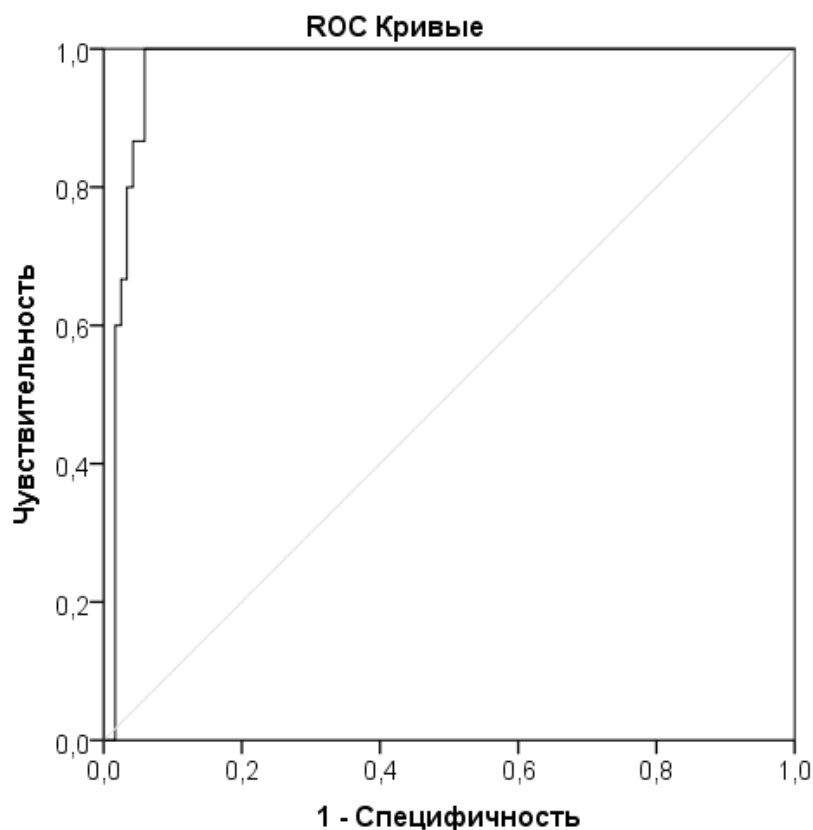
$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-4,477 + a \times 0,007 + b \times 2,056)}} \quad (1)$$

где  $a$  – концентрация интерлейкина-6,

$b$  – концентрация прокальцитонина,

$e$  – число Эйлера.

С помощью анализа ROC-кривых определен «порог отсечения», составивший 0,046, – значение  $p$ , при превышении которого для пациентов младше 59 лет увеличивается риск неблагоприятного исхода. При данном пороге отсечения чувствительность полученной модели на основе биохимических показателей составила – 93,3%, специфичность – 94,1% (AUC 0,973 (0,959-0,986)).



**Рисунок 5. ROC-кривая полученной модели для группы людей среднего возраста (34-59 лет)**

В прогностических целях для группы пожилого возраста (60-74 года) было составлено стандартное уравнение регрессии:  $y =$  -

$4,179+a \times 0,015+b \times 0,412+c \times 0,084$ . Вероятность неблагоприятного исхода ( $p$ , принимает значение от 0 до 1) вычисляется по формуле 1:

$$p = \frac{1}{1+e^{-(-4,179+a \times 0,015+b \times 0,412+c \times 0,084)}} \quad (1)$$

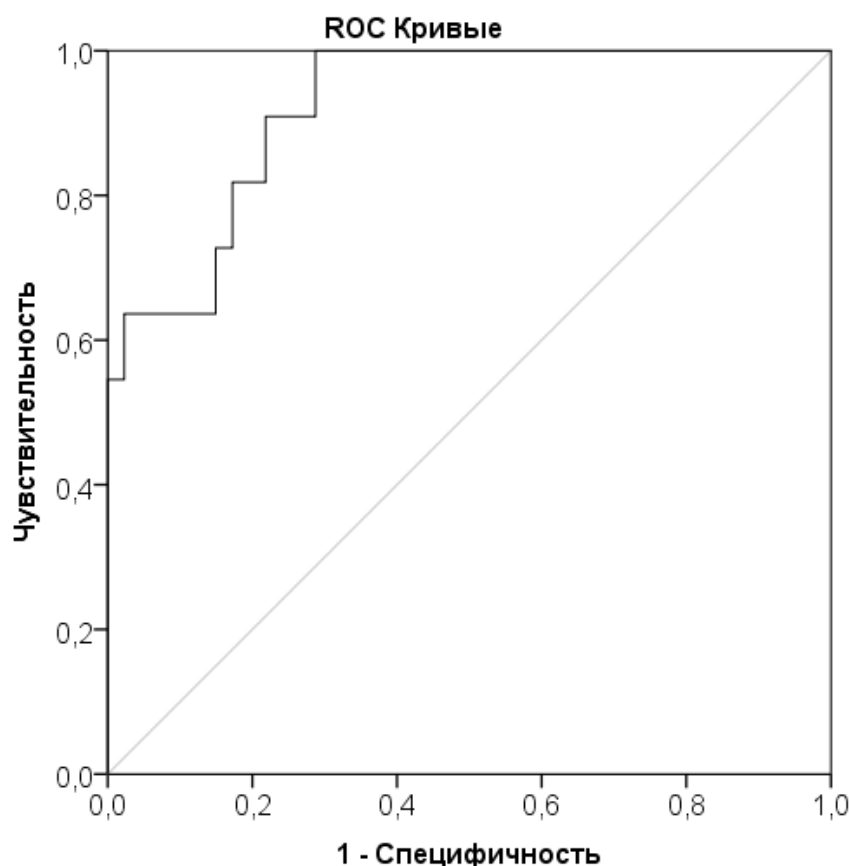
где  $a$  – концентрация тропонина I,

$b$  – концентрация прокальцитонина,

$c$  – концентрация CRP,

$e$  – число Эйлера.

Для модели, которая была получена с использованием анализа ROC-кривых (рисунок 5) и вычислен «порог отсечения», составивший 0,097, – значение  $p$ , при превышении которого для лиц 60-74 лет значительно увеличивается процент неблагоприятного исхода. Такой порог отсечения дает чувствительность полученной модели на основе биохимических показателей – 81,8%, специфичность – 82,8% (AUC 0,923 (0,854-0,991)).



**Рисунок 6. ROC-кривая полученной модели для группы людей 60-74 лет.**



Формирование прогностических моделей реализовалось с применением многофакторной логистической регрессии с пошаговым исключением переменных в модель, оказывающих значительное воздействие на свойство математической модели. Для формирования моделей по прогнозированию летального исхода для лиц пожилого возраста (75-89 лет) были включены следующие показатели: интерлейкин-6, тропонин I, прокальцитонин, мозговой натрийуретический пептид, С-реактивный белок.

Получено стандартное уравнение регрессии:  
 $y = -3,039 + a \times 0,008 + b \times 0,032$ . Вероятность того, что событие произойдет ( $p$ , принимает значение от 0 до 1) вычисляется по формуле 2:

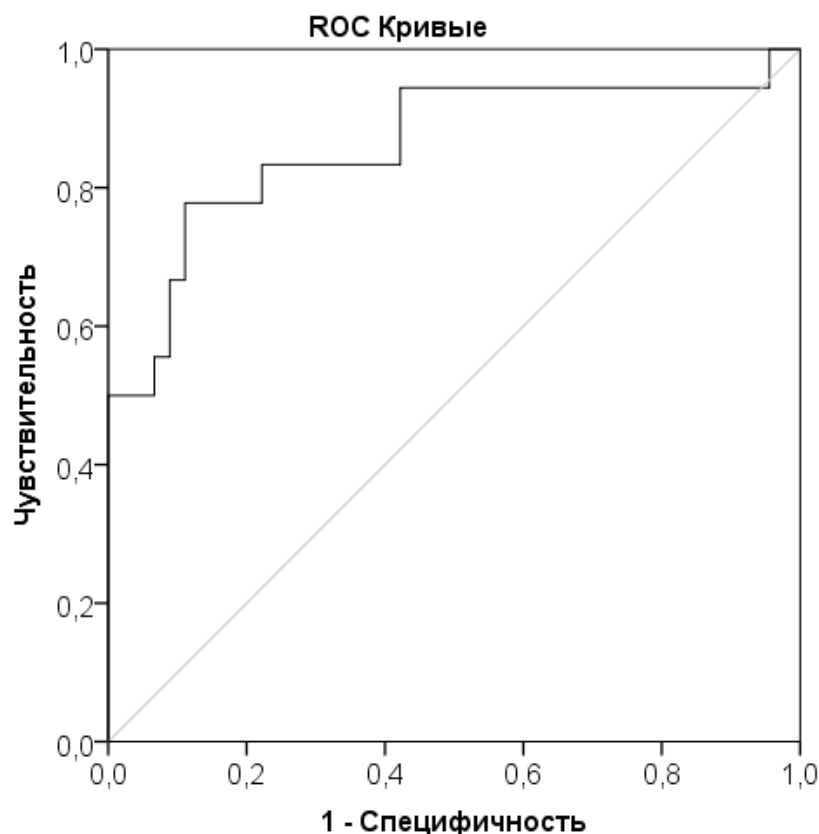
$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-3,039 + a \times 0,008 + b \times 0,032)}} \quad (2)$$

где  $a$  – концентрация интерлейкина-6,

$b$  – концентрация тропонина I,

$e$  – число Эйлера.

После анализа ROC-кривых (рисунок 6) был определен «порог отсечения», составивший 0,157, – значение  $p$ , при превышении которого для людей 75-89 лет возрастает риск летального исхода. При этом пороге отсечения чувствительность данной модели на основе биохимических параметров составила – 77, 8%, специфичность – 88, 9% (AUC 0, 862 (0, 744-0, 979)).



**Рисунок 7. ROC-кривая полученной модели для людей 75-89 лет**

Выявленные нами данные показали высокую прогностическую значимость исследованных показателей. В частности, обнаружена взаимосвязь между высокими уровнями интерлейкина-6 и тропонина I и тяжелым течением COVID-19 у лиц старческого возраста. Провоспалительный цитокиновый дисбаланс способствует разворачиванию патологических процессов на субклеточном и молекулярном уровне [Ткачева О.Н. и др. 2020].

Согласно результатам проведенного исследования, наиболее ценным прогностическим потенциалом неблагоприятного исхода COVID-19 у людей пожилого возраста явились тропонин I, прокальцитонин, С-реактивный белок. В отличие от лиц 60-74 лет у людей старческого возраста в число показателей-предикторов вошел интерлейкин-6. Данный провоспалительный цитокин является одним из основных представителей SASP-фенотипа. Известно, что секреторный фенотип, ассоциированный со старением,

манифестирует с возрастом, что может быть обоснованием для выявленных нами особенностей.

Кроме того, необходимо помнить о возможности присоединения вторичной бактериальной инфекции и, как следствие, развитие неблагоприятных исходов, что наиболее актуально для лиц пожилого возраста с ослабленным иммунитетом.

Описанная диагностическая эффективность измерения уровня прокальцитонина делает возможным корректировку плана прицельной диагностики, выбор таргетной терапии. Следует отметить, что выявленные нами результаты согласуются с выводами ряда авторов в этой области [Gao Y.D. et al.2021].

C-реактивный белок, как белок острой фазы, является ведущим показателем воспалительного процесса. Повышением C-реактивного белка также сопровождаются процессы хронического воспаления. Секреторный фенотип, ассоциированный со старением (SASP-фенотип) – возрастной цитокиновый профиль – имеет признаки затяжного воспаления.

Чрезвычайно высокая активность воспалительных процессов наиболее часто приводит к неблагоприятному исходу болезни. Гиперреактивность организма достаточно часто сопровождается феноменом «цитокинового шторма», приводящего к необратимым повреждениям органов и тканей [Ткачева О.Н. и др.2020]. Принимая во внимание наличие «фонового» хронического воспаления у людей старшей возрастной категории, возникает необходимость в оценке показателей воспалительных реакций для возможности прогнозирования и выбора тактики лечения у данного контингента.

При построении моделей по прогнозированию летального исхода на основе биохимических показателей не учитывались гендерные различия, так как переменная «пол» не оказывала значительное воздействие на свойство математической модели.

## ВЫВОДЫ

1. Лица во всех возрастных группах с летальным исходом имели значительно более высокий уровень ферритина: на 85,9% у лиц среднего возраста, на 84,3% у лиц пожилого возраста и у лиц старческого возраста на 39,9%, по сравнению с благоприятным. В то же время определено, что уровень ферритина выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 76,5% и пожилого возраста на 56,3% соответственно.

2. Уровень С-реактивного белка выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 44,4%, пожилого возраста на 62,0% соответственно, однако у женщин старческого возраста выше на 45,8%, чем у мужчин. Уровень С-реактивного белка при неблагоприятном исходе выше по сравнению со значениями этого предиктора при благоприятном исходе у лиц среднего возраста на 98,5%, у лиц пожилого возраста на 93,4%, у лиц старческого возраста на 70,3%.

3. Концентрация IL-6 среди людей с COVID-19 имела возраст-ассоциированную восходящую тенденцию. Так уровень интерлейкина – 6 при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 94,5%, у лиц пожилого возраста на 92,5%, у лиц старческого возраста на 83,6% по сравнению с благоприятным исходом. Также уровень интерлейкина – 6 выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 57,7% и пожилого возраста на 46,8% соответственно, однако у лиц старческого возраста уровень интерлейкина – 6 выше у женщин, чем у мужчин на 71,1%.

4. Было показано, что уровень D-димера при неблагоприятном исходе выше по сравнению со значениями этого показателя при благоприятном исходе у лиц среднего возраста на 38,5%, у лиц пожилого возраста на 36,1%, у лиц старческого возраста на 38,0% соответственно.

5. Так, было показано, что уровень прокальцитонина выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 60,0% и пожилого возраста на 16,7% соответственно. Уровень прокальцитонина при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 96,3% по сравнению

с благоприятным исходом, у лиц пожилого возраста на 86,8%, у лиц старческого возраста на 82,5% соответственно.

6. Определено, что уровень в крови BNP повышается у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 46,7%. Уровень BNP при неблагоприятном исходе у лиц среднего возраста выше на 50%; у лиц пожилого возраста на 75.6%, у лиц старческого возраста на 65.0% по сравнению с благоприятным исходом.

7. Уровень сердечного тропонина I в зависимости от возраста продемонстрировал однозначную восходящую тенденцию, показатели этого лабораторного предиктора статистически значимо выше у людей всех возрастных групп при неблагоприятном исходе по сравнению с благоприятным. Уровень тропонина I при неблагоприятном исходе выше у лиц среднего возраста на 93,7% по сравнению со значениями при благоприятном исходе заболевания, у лиц пожилого возраста на 93,4%, у лиц старческого возраста на 90,1% соответственно. В средней возрастной группе при сравнении по гендерному признаку уровень в крови тропонина I выше у мужчин по сравнению с женщинами среднего возраста на 31,5%.

8. Полученные результаты лабораторных показателей демонстрируют прогностическую ценность при создании математической модели по прогнозированию неблагоприятного исхода при COVID-19. Так, согласно полученной модели прогностическую ценность у лиц среднего возраста имеют значения интерлейкина-6 и прокальцитонина; пожилого возраста – тропонин I, прокальцитонин, С-реактивный белок. В то же время у людей старческого возраста такими прогностическими показателями оказались интерлейкин-6 и тропонин I.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для лиц средней возрастной группы с подтвержденным диагнозом COVID-19 при поступлении в стационар, наряду с традиционными оценочными шкалами рисков в качестве дополнительного предиктора летального исхода, согласно полученной прогностической модели, целесообразно использовать значения интерлейкина-6 и прокальцитонина. Чувствительность полученной модели на основе биохимических показателей составила – 93,3%, специфичность – 94,1% (AUC 0,973 (0,959-0,986)).

2. Для лиц пожилой возрастной группы с подтвержденным диагнозом COVID-19 при поступлении в стационар, наряду с традиционными оценочными шкалами рисков в качестве дополнительного предиктора летального исхода, согласно полученной прогностической модели, целесообразно использовать значения тропонина-I, прокальцитонина и С-реактивного белка. Чувствительность полученной модели на основе биохимических показателей – 81,8%, специфичность – 82,8% (AUC 0,923 (0,854-0,991)).

3. Для лиц старческой возрастной группы с подтвержденным диагнозом COVID-19 при поступлении в клинику, наряду с традиционными оценочными шкалами рисков в качестве дополнительного предиктора летального исхода, согласно полученной прогностической модели, следует ориентироваться на изменения таких параметров, как интерлейкин-6 и тропонин-I. Чувствительность данной модели на основе биохимических параметров составила – 77, 8%, специфичность – 88, 9% (AUC 0, 862 (0, 744-0, 979)).

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- BNP - мозговой натрийуретического пептид
- BSF - 2-фактор, стимулирующий В-клетки
- CRP - С- реактивный белок
- Ferr - ферритин
- HSF - гепатоцитарный стимулирующий фактор
- IL-6 - интерлейкин -6
- LPS - липополисахарид бактерий
- MAS - синдром активации макрофагов
- NF-κB - универсальный фактор транскрипции
- NPS - натрийуретическая пептидная система
- RAMPs - патоген ассоциированные молекулярные паттерны
- RCT - прокальцитонин
- TnI - High Sensitive Troponin I (сердечный тропонин I)
- ИМ - инфаркта миокарда
- ОДН - острая дыхательная недостаточность
- ОИМ - острого инфаркта миокарда
- ОРДС - острый респираторный дистресс-синдром
- ОРЗ - острое респираторное заболевание
- ТАП - тканевой активатор плазминогена
- ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блинова Т. В., Рахманов Р.С., Страхова Л.А., Колесов С.А. К вопросу о прогностической значимости С-реактивного белка. Медицинский альманах. 2016 - № 2(42). - С. 39-42.
2. Вельков В.В. С-реактивный белок – «золотой маркер», многозначительный и незаменимый в лабораторной диагностике острых воспалительных процессов и оценке рисков сосудистых патологий. М. 2010. 78 с.
3. Вечорко В. И., Аверков О. В., Гришин Д. В., Зимин А. А. Шкалы NEWS2, 4C Mortality Score, COVID-GRAM, Sequential Organ Failure Assessment Quick как инструменты оценки исходов тяжелой формы COVID-19 (пилотное ретроспективное когортное исследование). Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(3):3103.doi:10.15829/1728-8800-2022-3103.
4. Волчков В.А., Пушкин А.С., Рукавишникова С.А., Титова О.Н., Ахмедов Т.А., Бояркин А.А. Критические значения лабораторных показателей в формировании исхода у пациентов с COVID-19. Анестезиология и реаниматология. 2021; 5:30–35. Doi: 10.17116/anaesthesiology202105130.
5. Гордеева Е.К., Каде А.Х. Коррекция цитокинового и гормонального дисбаланса при лечении стабильной стенокардии напряжения // Кубанский научный медицинский вестник, 2018, 25(3), 51-55.
6. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х. Влияние тималина на системы иммунитета, гемостаза и уровень цитокинов у пациентов с различными заболеваниями. Перспективы применения при COVID-19. Врач. 2020 ; 7:18 - 26. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-07-04>.
7. Лазарева Н.Б., Журавлева М.В., Прокофьев А.Б., Ших Е.В. Потенциальные возможности мониторинга концентрации прокальцитонина



при проведении антибактериальной терапии инфекций нижних дыхательных путей. Антибиотики и химиотерапия. 2018;63(1–2):32–37. DOI: 10.24411/0235-2990-2018-00013.

8. Мареев В. Ю., Беграмбекова Ю. Л., Мареев Ю. В. Как оценивать результаты лечения больных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)? Шкала Оценки Клинического Состояния (ШОКС-КОВИД). Кардиология. 2020;11:3541. doi:10.18087/cardio.2020.11.n1439.

9. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации (версия от 08.04.2020). М.: МЗ РФ, 2020. 122 с.

10. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавунов Н.Ф., Щелканов М.Ю., Суранова Т.Г., Шахмарданов М.З., Бургасова О.А., Кардонова Е.В., Базарова М.В., Антипят Н.А., Серова М.А., Орлова Н.В., Забозлаев Ф.Г., Кружкова И.С., Кадышев В.А. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Учебно-методическое пособие. М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. 71 с

11. Полушин Ю.С., Шлык И.В., Гаврилова Е.Г., Паршин Е.В., Гинзбург А.М. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2021. Т. 18. № 4. С. 20-28.

12. Сизякина Л.П., Закурская В.Я., Скрипкина Н.А., Антонова Е.А. Уровень ферритина как предиктор тяжелого течения COVID-19. Иммунология. 2021; 42 (5): 518–525. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-4-518-525>.

13. Титов В.Н. С-реактивный белок – тест нарушения «чистоты» межклеточной среды организма при накоплении «биологического мусора» большой молекулярной массы. Клиническая лабораторная диагностика. 2008. № 2. С. 3-14.

14. Ткачева О. Н., Котовская Ю.В., Алексанян Л.А. и др. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 у пациентов пожилого и старческого возраста: особенности профилактики, диагностики и лечения. *Согласованная Позиция Экспертов Российской Ассоциации Геронтологов И Гериатров. Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020; 3.(19): 127-150. Doi: 10.15829/1728-8800-2020-2601.

15. Шкала оценки тяжести состояния для пациентов с COVID-19. <http://www.1spbgmu.ru/ru/klinika/shkala-otsenki-tyazhesti-sostoyaniya-dlya-patsientov-s-covid-19> (12 October 2021).

16. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // *Инфекция и иммунитет.* 2020. Т. 10, № 2. С.221–246.

17. Abernethy TJ, Avery OT. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood : i. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with c polysaccharide of pneumococcus. *J Exp Med.* 1941 Jan 31;73(2):173-82. doi: 10.1084/jem.73.2.173. PMID: 19871070; PMCID: PMC2135121.

18. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood.* 2009 Mar 26;113(13):2878-87. doi: 10.1182/blood-2008-06-165845. Epub 2008 Nov 13. PMID: 19008457.

19. Adao R. Inside the heart of COVID-19. *Cardiovasc. Res.*, 2020: cvaa086. doi: 10.1093/cvr/cvaa086 ],[Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2020, vol. 14, no. 3, pp. 247–250. doi: 10.1016/j.dsx.2020.03.013

20. Al-Lami R. A., Urban R. J., Volpi E. et al. Sex Hormones and Novel Corona Virus Infectious Disease (COVID-19) // *Mayo Clin. Proc.* 2020. Vol. 95. № 8. P. 1710–1714. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.05.01>

21. Arosio P, Elia L, Poli M. Ferritin, cellular iron storage and regulation. *IUBMB Life*. 2017 Jun;69(6):414-422. doi: 10.1002/iub.1621. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28349628.

22. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1993 Feb 27;341(8844):515-8. doi: 10.1016/0140-6736(93)90277-n. PMID: 8094770; PMCID: PMC7141580.

23. Baker JO, Reinhold J, Redwood S, Marber MS. Troponins: redefining their limits. *Heart*. 2011 Mar; 97(6):447-52. doi: 10.1136/hrt.2010.205617. Epub 2010 Dec 30. PMID: 21193685.

24. Bannaga AS, Tabuso M, Farrugia A, Chandrapalan S, Somal K, Lim VK, Mohamed S, Nia GJ, Mannath J, Wong JL, Noufaily A, Disney BR, Arasaradnam RP. C-reactive protein and albumin association with mortality of hospitalised SARS-CoV-2 patients: A tertiary hospital experience. *Clin Med (Lond)*. 2020 Sep;20(5):463-467. doi: 10.7861/clinmed.2020-0424. PMID: 32934038; PMCID: PMC7539728.

25. Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, Daßler-Plenker J, Guerci P, Huynh C, Knight JS, Loda M, Looney MR, McAllister F, Rayes R, Renaud S, Rousseau S, Salvatore S, Schwartz RE, Spicer JD, Yost CC, Weber A, Zuo Y, Egeblad M. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020 Jun 1;217(6):e20200652. doi: 10.1084/jem.20200652. PMID: 32302401; PMCID: PMC7161085.

26. Becker KL. Procalcitonin and the Calcitonin Gene Family of Peptides in Inflammation, Infection, and Sepsis: A Journey from Calcitonin Back to Its Precursors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1512–1525. doi: 10.1210/jc.2002-021444.

27. Benjamin GM, Aghagoli G, Lavine K, et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Rev Med Virol*. 2021;31:1-10. doi:10.1002/rmv.2146.

28. Bularga A, Lee KK, Stewart S, Ferry AV, Chapman AR, Marshall L, Strachan FE, Cruickshank A, Maguire D, Berry C, Findlay I, Shah ASV, Newby DE, Mills NL, Anand A. High-Sensitivity Troponin and the Application of Risk Stratification Thresholds in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome. *Circulation*. 2019 Nov 5;140(19):1557-1568. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042866. Epub 2019 Sep 1. PMID: 31475856; PMCID: PMC6831036.

29. Burke MA, Cotts WG. Interpretation of B-type natriuretic peptide in cardiac disease and other comorbid conditions. *Heart Fail Rev*. 2007 Mar;12(1):23-36. doi: 10.1007/s10741-007-9002-9. Epub 2007 Mar 8. PMID: 17345160.

30. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *Lancet*. 2018 Jul 7;392(10141):75-87. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30696-2. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29937192.

31. Chen L., Yu J., He W., Chen L., Yuan G., Dong F., Chen W., Cao Y., Yang J., Cai L., Wu D., Ran Q., Li L., Liu Q., Ren W., Gao F., Wang H., Chen Z., Gale R.P., Li Q., Hu Y. Risk factors for death in 1859 subjects with COVID-19. *Leukemia*. 2020. 34 (8): 2173-2183. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0911-0>. Epub 2020 Jun 16. PMID:32546725.

32. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 2020, vol. 395, pp. 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7

33. Chen T., Wu D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., Ma K., Xu D., Yu H., Wang H., Wang T., Guo W., Chen J., Ding C., Zhang X., Huang J., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*, 2020, vol. 368: m1091. doi: 10.1136/bmj.m1091

34. Chen X, Zhao B, Qu Y, Chen Y, Xiong J, Feng Y, Men D, Huang Q, Liu Y, Yang B, Ding J, Li F. Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome

Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated With Drastically Elevated Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020 Nov 5;71(8):1937-1942. doi: 10.1093/cid/ciaa449. PMID: 32301997; PMCID: PMC7184354.]

35. Cheng K, He M, Shu Q, Wu M, Chen C, Xue Y. Analysis of the risk factors for nosocomial bacterial infection in patients with COVID-19 in a tertiary hospital. *Risk Manag Healthc Policy*. 2020;13:2593–2599. doi: 10.2147/RMHP.S277963.

36. Chew N.W., Ngiam J.N., Tham S.M., et al. Fever as a predictor of adverse outcomes in COVID-19 // *QJM*. 2021. Vol. 114, N 10. P. 706–714. doi: 10.1093/qjmed/hcab023.

37. Choron R.L., Butts C.A., Bargoud C., et al. Fever in the ICU: A Predictor of Mortality in Mechanically Ventilated COVID-19 Patients // *J Intensive Care Med*. 2021. Vol. 36, N 4. P. 484–493. doi: 10.1177/0885066620979622.

38. Cillóniz C, Torres A, Garcia-Vidal C, Moreno-Garcia E, Amaro R, Soler N, Marcos MA, Rico V, Gabarrús A, Nicolás JM, Soriano A; COVID19-Researchers. The Value of C-Reactive Protein-to-Lymphocyte Ratio in Predicting the Severity of SARS-CoV-2 Pneumonia. *Arch Bronconeumol*. 2021 Jan;57:79-82. doi: 10.1016/j.arbres.2020.07.038. Epub 2020 Sep 6. PMID: 34629674; PMCID: PMC7474890.

39. Colafrancesco S, Alessandri C, Conti F, Priori R. COVID-19 gone bad: A new character in the spectrum of the hyperferritinemic syndrome? *Autoimmun Rev*. 2020 Jul;19(7):102573. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102573. Epub 2020 May 5. PMID: 32387470; PMCID: PMC7199723.

40. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood*. 2020 Jun 4;135(23):2033-2040. doi: 10.1182/blood.2020006000. PMID: 32339221; PMCID: PMC7273827.

41. COVID-19 Coronavirus pandemic. <http://www.worldometers.info/coronavirus> (16 January 2022). COVID-19

Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. <http://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov> (12 October 2021).

42. Da Rosa Mesquita R., Francelino Silva Junior L.C., Santos Santana F.M., et al. Clinical manifestations of COVID-19 in the general population: systematic review // *Wien Klin Wochenschr.* 2021. Vol. 133, N 7-8. P. 377–382. doi: 10.1007/s00508-020-01760-4.

43. de Bold AJ. Cardiac natriuretic peptides gene expression and secretion in inflammation. *J Investig Med.* 2009 Jan;57(1):29-32. doi: 10.2310/JIM.0b013e3181948b37. Erratum in: *J Investig Med.* 2009 Aug;57(6):736. Vesely, David L [removed]. PMID: 19158604.

44. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med.* 2011 Nov 7;17(11):1391-401. doi: 10.1038/nm.2507. PMID: 22064429; PMCID: PMC3886192.

45. Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nat Rev Immunol.* 2015 Jun;15(6):335-49. doi: 10.1038/nri3843. Epub 2015 May 15. PMID: 25976513; PMCID: PMC4786079.

46. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3;383(23):2255-2273. doi: 10.1056/NEJMra2026131. PMID: 33264547; PMCID: PMC7727315.

47. Findeisen M, Allen TL, Henstridge DC, Kammoun H, Brandon AE, Baggio LL, Watt KI, Pal M, Cron L, Estevez E, Yang C, Kowalski GM, O'Reilly L, Egan C, Sun E, Thai LM, Krippner G, Adams TE, Lee RS, Grötzinger J, Garbers C, Risis S, Kraakman MJ, Mellet NA, Sligar J, Kimber ET, Young RL, Cowley MA, Bruce CR, Meikle PJ, Baldock PA, Gregorevic P, Biden TJ, Cooney GJ, Keating DJ, Drucker DJ, Rose-John S, Febbraio MA. Treatment of type 2 diabetes with the designer cytokine IC7Fc. *Nature.* 2019 Oct;574(7776):63-68. doi: 10.1038/s41586-019-1601-9. Epub 2019 Sep 25. PMID: 31554967

48. Gandini O, Criniti A, Ballesio L, Giglio S, Galardo G, Gianni W, Santoro L, Angeloni A, Lubrano C. Serum Ferritin is an independent risk factor for Acute Respiratory Distress Syndrome in COVID-19. *J Infect.* 2020 Dec;81(6):979-997. doi: 10.1016/j.jinf.2020.09.006. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32946917; PMCID: PMC7490639.

49. Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. *Semin Hematol.* 2009; 46: 387–393. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2009.06.001>.

50. Gao L, Jiang D, Wen XS, Cheng XC, Sun M, He B, You LN, Lei P, Tan XW, Qin S, Cai GQ, Zhang DY. Prognostic value of NT-proBNP in patients with severe COVID-19. *Respir Res.* 2020 Apr 15;21(1):83. doi: 10.1186/s12931-020-01352-w. PMID: 32293449; PMCID: PMC7156898.

51. Gao Y.D., Ding M., Dong X. et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy.* 2021; 2 (76): 428–455. Doi: 10.1111/all.14657.

52. Gómez-Pastora J, Weigand M, Kim J, Wu X, Strayer J, Palmer AF, Zborowski M, Yazer M, Chalmers JJ. Hyperferritinemia in critically ill COVID-19 patients - Is ferritin the product of inflammation or a pathogenic mediator? *Clin Chim Acta.* 2020 Oct;509:249-251. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.033. Epub 2020 Jun 21. PMID: 32579952; PMCID: PMC7306200.

53. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses — a statement of the Coronavirus Study Group. *Nature Microbiol.* 2020, vol. 5, no. 4, pp. 536–544.

54. Grasselli G., Greco M., Zanella A., Albano G., Antonelli M., Bellani G., Bonanomi E., Cabrini L., Carlesso E., Castelli G., Cattaneo S., Cereda D., Colombo S., Coluccello A., Crescini G., Forastieri Molinari A., Foti G., Fumagalli R., Iotti G.A., Langer T., Latronico N., Lorini F.L., Mojoli F., Natalini G., Pessina

C.M., Ranieri V.M., Rech R., Scudeller L., Rosano A., Storti E., Thompson B.T., Tirani M., Villani P.G., Pesenti A, Cecconi M.; COVID-19 Lombardy ICU Network. Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. *JAMA Intern Med.* 2020; 180 (10): 1345-1355. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.3539>. PMID:32667669.

55. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L, Shan H, Lei CL, Hui DSC, Du B, Li LJ, Zeng G, Yuen KY, Chen RC, Tang CL, Wang T, Chen PY, Xiang J, Li SY, Wang JL, Liang ZJ, Peng YX, Wei L, Liu Y, Hu YH, Peng P, Wang JM, Liu JY, Chen Z, Li G, Zheng ZJ, Qiu SQ, Luo J, Ye CJ, Zhu SY, Zhong NS; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020 Apr 30;382(18):1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032. Epub 2020 Feb 28. PMID: 32109013; PMCID: PMC7092819

Guo T, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020.

56. Guo W, Li M, Dong Y, Zhou H, Zhang Z, Tian C, Qin R, Wang H, Shen Y, Du K, Zhao L, Fan H, Luo S, Hu D. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes Metab Res Rev.* 2020 Mar 31;36(7):e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319. Epub ahead of print. PMID: 32233013; PMCID: PMC7228407.

57. Gupta N, Zhao YY, Evans CE. The stimulation of thrombosis by hypoxia. *Thromb Res.* 2019 Sep;181:77-83. doi: 10.1016/j.thromres.2019.07.013. Epub 2019 Jul 15. PMID: 31376606

Hager K, Platt D. Fibrin degeneration product concentrations (D-dimers) in the course of ageing. *Gerontology.* 1995;41(3):159-65. doi: 10.1159/000213677. PMID: 7601368.

58. Han H, Yang L, Liu R, Liu F, Wu KL, Li J, Liu XH, Zhu CL. Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Jun 25;58(7):1116-1120. doi: 10.1515/cclm-2020-0188. PMID: 32172226



59. Han T et al. Procalcitonin for patient stratification and identification of bacterial co-infection in COVID-19. Clin Med May 2020. Handbook of COVID-19 prevention and treatment. Ed.: Liang T. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2020. 68 p

60. He X., Cheng X., Feng X., et al. Clinical Symptom Differences Between Mild and Severe COVID-19 Patients in China: A Meta-Analysis // Front Public Health. 2021. Vol. 8. P. 561264. doi: 10.3389/fpubh.2020.561264.

61. Heink S, Yogev N, Garbers C, Herwerth M, Aly L, Gasperi C, Husterer V, Croxford AL, Möller-Hackbarth K, Bartsch HS, Sotlar K, Krebs S, Regen T, Blum H, Hemmer B, Misgeld T, Wunderlich TF, Hidalgo J, Oukka M, Rose-John S, Schmidt-Supprian M, Waisman A, Korn T. Trans-presentation of IL-6 by dendritic cells is required for the priming of pathogenic TH17 cells. Nat Immunol. 2017 Jan;18(1):74-85. doi: 10.1038/ni.3632. Epub 2016 Nov 28. Erratum in: Nat Immunol. 2017 Mar 22;18(4):474. PMID: 27893700; PMCID: PMC5164931.

62. Herold T, Jurinovic V, Arnreich C, Lipworth BJ, Hellmuth JC, von Bergwelt-Baildon M, Klein M, Weinberger T. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. J Allergy Clin Immunol. 2020 Jul;146(1):128-136.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.008. Epub 2020 May 18. PMID: 32425269; PMCID: PMC7233239.

63. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5. Epub 2020 Jan 24. Erratum in: Lancet. 2020 Jan 30; PMID: 31986264; PMCID: PMC7159299.

64. Huang L.H. Interleukin-17 drives interstitial entrapment of tissue lipoproteins in experimental psoriasis. Cell Metabol. 2019; 29: 475-487. Doi: 10.1016/j.cmet.2018.10.006.

65. Huttner BD, Catho G, Pano-Pardo JR, Pulcini C, Schouten J. COVID-19: don't neglect antimicrobial stewardship principles! *Clin Microbiol Infect.* 2020 Jul;26(7):808-810. doi: 10.1016/j.cmi.2020.04.024. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32360446; PMCID: PMC7190532.

66. Inciardi RM et al. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for COVID-19 and cardiac disease in Northern Italy. *European Heart Journal* (2020) 41, 1821–1829.

67. Interim Guidelines for Prevention, Diagnosis and Treatment of Novel Coronavirus Infection (COVID-19). Version 13 (14.10.2021). (In Russ.) Временные методические рекомендации “Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)”. Версия 13 (14.10.2021). <https://edu.rosminzdrav.ru/index.php?id=250> (16 октября 2021).

68. Izcovich A, Ragusa MA, Tortosa F, Lavena Marzio MA, Agnoletti C, Bengolea A, et al. Prognostic factors for severity and mortality in patients infected with COVID-19: a systematic review. *PLoS ONE.* 2020;15:e0241955. doi: 10.1371/journal.pone.0241955.

69. J.-W. Li et al., The impact of 2019 novel coronavirus on heart injury: A Systematic review and Meta-analysis. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2020, Apr.

70. Jang Liu et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol*, 2020, 127.104370.

71. Jong E., Oers J.A., Beishuizen A. et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically patients: a randomised, controlled, open-label trial // *Lancet Infect Dis*, 2016, 16, P. 819-827.

72. Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *J Exp Med.* 2020 May 4;217(5):e20190347. doi: 10.1084/jem.20190347. Erratum in: *J Exp Med.* 2020 May 4;217(5): PMID: 32267936; PMCID: PMC7201933.]

73. Kang S, Tanaka T, Inoue H, Ono C, Hashimoto S, Kioi Y, Matsumoto H, Matsuura H, Matsubara T, Shimizu K, Ogura H, Matsuura Y, Kishimoto T. IL-6 trans-signaling induces plasminogen activator inhibitor-1 from vascular endothelial cells in cytokine release syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Sep 8;117(36):22351-22356. doi: 10.1073/pnas.2010229117. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32826331; PMCID: PMC7486751.

74. Kernan KF, Carcillo JA. Hyperferritinemia and inflammation. *Int Immunol*. 2017 Nov 1;29(9):401-409. doi: 10.1093/intimm/dxx031. PMID: 28541437; PMCID: PMC5890889.

Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol*. 2010 Jul;40(7):1830-5. doi: 10.1002/eji.201040391. PMID: 20583029.]

75. Knight S.R., Ho A., Pius R. et al. Risk stratification of patients admitted to hospital with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: development and validation of the 4C Mortality Score. *BMJ*. 2020; 370: 3339. Doi: 10.1136/bmj.m3339.

76. Lalueza A. , Ayuso B., Arrieta E., Trujillo H., Folgueira D., Cueto C., Serrano A., Laureiro J., Arévalo-Cañas C., Castillo C., Díaz-Pedroche C., Lumbreras C., Elevation of serum ferritin levels for predicting a poor outcome in hospitalized patients with influenza infection, *Clin. Microbiol. Infect*, 2020, 26 (11), 1557.e9–1557.e15.

77. Lee J.Y., Kim H.A., Huh K., Hyun M., Rhee J.Y., Jang S., Kim J.Y., Peck K.R., Chang H.H. Risk Factors for Mortality and Respiratory Support in Elderly Patients Hospitalized with COVID-19 in Korea. *J Korean Med Sci*. 2020; 35 (23): e223. <https://doi.org/10.3346/jkms.2020.35.e223>. PMID: 32537957.

78. Li Y, Hu Y, Yu J, Ma T. Retrospective analysis of laboratory testing in 54 patients with severe- or critical-type 2019 novel coronavirus pneumonia. *Lab Invest*. 2020 Jun;100(6):794-800. doi: 10.1038/s41374-020-0431-6. Epub 2020 Apr 27. PMID: 32341519; PMCID: PMC7184820.

79. Lin L., Jiang X., Zhang Z., Huang S., Zhang Z., Fang Z., Gu Z., Gao L., Shi H., Mai L., Liu Y., Lin X., Lai R., Yan Z., Li X., Shan H. Gastrointestinal

symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut*, 2020: gutjnl-2020-321013. doi: 10.1136/gutjnl-2020-321013.

80. Linkins LA, Takach Lapner S. Review of D-dimer testing: Good, Bad, and Ugly. *Int J Lab Hematol*. 2017 May;39 Suppl 1:98-103. doi: 10.1111/ijlh.12665. PMID: 28447414.

81. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis*. 2020 May-Jun;63(3):390-391. doi: 10.1016/j.pcad.2020.03.001. Epub 2020 Mar 10. PMID: 32169400; PMCID: PMC7127395.

82. Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020 Jun;505:190-191. doi: 10.1016/j.cca.2020.03.004. Epub 2020 Mar 4. PMID: 32145275; PMCID: PMC7094472.

83. Litao Zhang et al. D dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020.

84. Liu P. P., Blet A., Smyth D., Li H. The Science Underlying COVID-19: Implications for the Cardiovascular System // *Circulation* 2020. Vol. 142. № 1. P. 68–78. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047549>.

85. Lu C.C., Chen M.Y., Lee W.S., Chang Y.L. Potential therapeutic agents against COVID-19: What we know so far? *J. Chin. Med. Assoc.* 2020; 83(6):534-536. DOI: 10.1097/JCMA.0000000000000318.

86. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22;395(10224):565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32007145; PMCID: PMC7159086.

87. Mahroum N, Alghory A, Kiyak Z, Alwani A, Seida R, Alrais M, Shoenfeld Y. Ferritin - from iron, through inflammation and autoimmunity, to

COVID-19. *J Autoimmun.* 2022 Jan;126:102778. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102778. Epub 2021 Dec 6. PMID: 34883281; PMCID: PMC8647584.

88. McDonough JL, Van Eyk JE. Developing the next generation of cardiac markers: disease-induced modifications of troponin I. *Prog Cardiovasc Dis.* 2004 Nov-Dec;47(3):207-16. doi: 10.1016/j.pcad.2004.07.001. PMID: 15736586.

89. Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Cervera R. Role of Infectious Diseases in the Antiphospholipid Syndrome (Including Its Catastrophic Variant). *Curr Rheumatol Rep.* 2018 Aug 20;20(10):62. doi: 10.1007/s11926-018-0773-x. PMID: 30123926.

90. Mesquita G, Silva T, Gomes AC, Oliveira PF, Alves MG, Fernandes R, Almeida AA, Moreira AC, Gomes MS. H-Ferritin is essential for macrophages' capacity to store or detoxify exogenously added iron. *Sci Rep.* 2020 Feb 20;10(1):3061. doi: 10.1038/s41598-020-59898-0. PMID: 32080266; PMCID: PMC7033252.

91. Mihlan M, Stippa S, Józsi M, Zipfel PF. Monomeric CRP contributes to complement control in fluid phase and on cellular surfaces and increases phagocytosis by recruiting factor H. *Cell Death Differ.* 2009 Dec;16(12):1630-40. doi: 10.1038/cdd.2009.103. Epub 2009 Aug 14. PMID: 19680263.

92. Molins B, Peña E, de la Torre R, Badimon L. Monomeric C-reactive protein is prothrombotic and dissociates from circulating pentameric C-reactive protein on adhered activated platelets under flow. *Cardiovasc Res.* 2011 Nov 1;92(2):328-37. doi: 10.1093/cvr/cvr226. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21859817.

93. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* 2020 May 1;368(6490):473-474. doi: 10.1126/science.abb8925. Epub 2020 Apr 17. PMID: 32303591

94. Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Ferritin: An Inflammatory Player Keeping Iron at the Core of Pathogen-Host Interactions. *Microorganisms.* 2020 Apr 18;8(4):589. doi: 10.3390/microorganisms8040589. PMID: 32325688; PMCID: PMC7232436.

95. Musher DM, Abers MS, Corrales-Medina VF. Acute Infection and Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019 Jan 10;380(2):171-176. doi: 10.1056/NEJMra1808137. PMID: 30625066.

96. Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K. Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. *Peptides*. 2019 Jan;111:18-25. doi: 10.1016/j.peptides.2018.05.012. Epub 2018 May 31. PMID: 29859763.

96. Nishida K, Yamaguchi O, Otsu K. Degradation systems in heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Jul;84:212-22. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.05.004. Epub 2015 May 14. PMID: 25981331.

97. Para O., Caruso L., Pestelli G., Maddaluni L., Fedi G., Guidi S., Pestelli C., Nozzoli C., Tangianu F., Pennella B., Dentali F., Carrara D., Tamburello A., Castelnovo L., Ciarambino T. *Postgraduate Medicine*. 2021.

98. Picchianti Diamanti A, Rosado MM, Pioli C, Sesti G, Laganà 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 May 8;21(9):3330. doi: 10.3390/ijms21093330. PMID: 32397174; PMCID: PMC7247555.]

99. Plays M, Müller S, Rodriguez R. Chemistry and biology of ferritin. *Metallomics*. 2021 May 12;13(5):mfab021. doi: 10.1093/mtomcs/mfab021. PMID: 33881539; PMCID: PMC8083198.

100. Poggiali E, Zaino D, Immovilli P, Rovero L, Losi G, Dacrema A, Nuccetelli M, Vadacca GB, Guidetti D, Vercelli A, Magnacavallo A, Bernardini S, Terracciano C. Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in CoVID-19 patients. *Clin Chim Acta*. 2020 Oct;509:135-138. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.012. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32531257; PMCID: PMC7282743.

101. Pranata R, Huang I, Lukito AA, Raharjo SB. Elevated N-terminal pro-brain natriuretic peptide is associated with increased mortality in patients with COVID-19: systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med J*. 2020

Jul;96(1137):387-391. doi: 10.1136/postgradmedj-2020-137884. Epub 2020 May 20. PMID: 32434874; PMCID: PMC7316121.

102. Puntmann V. O. et al. Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol* 5 (11): 1265–1273. – 2020.

103. Pyle CJ, Uwadiae FI, Swieboda DP, Harker JA. Early IL-6 signalling promotes IL-27 dependent maturation of regulatory T cells in the lungs and resolution of viral immunopathology. *PLoS Pathog*. 2017 Sep 27;13(9):e1006640. doi: 10.1371/journal.ppat.1006640. PMID: 28953978; PMCID: PMC5633202.

104. Qeadan F, Tingey B, Gu LY, Packard AH, Erdei E, Saeed AI. Prognostic Values of Serum Ferritin and D-Dimer Trajectory in Patients with COVID-19. *Viruses*. 2021 Mar 5;13(3):419. doi: 10.3390/v13030419. PMID: 33807920; PMCID: PMC7998367.

105. Qin JJ, Cheng X, Zhou F, Lei F, Akolkar G, Cai J, Zhang XJ, Blet A, Xie J, Zhang P, Liu YM, Huang Z, Zhao LP, Lin L, Xia M, Chen MM, Song X, Bai L, Chen Z, Zhang X, Xiang D, Chen J, Xu Q, Ma X, Touyz RM, Gao C, Wang H, Liu L, Mao W, Luo P, Yan Y, Ye P, Chen M, Chen G, Zhu L, She ZG, Huang X, Yuan Y, Zhang BH, Wang Y, Liu PP, Li H. Redefining Cardiac Biomarkers in Predicting Mortality of Inpatients With COVID-19. *Hypertension*. 2020 Oct;76(4):1104-1112. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15528. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32673499; PMCID: PMC7375179.

106. Rajab IM, Hart PC, Potempa LA. How C-Reactive Protein Structural Isoforms With Distinctive Bioactivities Affect Disease Progression. *Front Immunol*. 2020 Sep 10;11:2126. doi: 10.3389/fimmu.2020.02126. PMID: 33013897; PMCID: PMC7511658.

107. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M, Satta G, Cooke G, Holmes A. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec 3;71(9):2459-2468. doi: 10.1093/cid/ciaa530. PMID: 32358954; PMCID: PMC7197596.

108. Rod JE, Oviedo-Trespalacios O, Cortes-Ramirez J. A brief-review of the risk factors for covid-19 severity. *Rev Saude Publica*. 2020;54:60. doi: 10.11606/s1518-8787.2020054002481. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32491116; PMCID: PMC7263798.

109. Ruan Q 1 2, Kun Yang 3, Wenxia Wang 4, Lingyu Jiang 5, Jianxin Song. *Intensive Care Med*. 2020 May;46(5):846-848. doi: 10.1007/s00134-020-05991-x. Epub 2020 Mar 3. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China.

110. Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, Rutherford PS, Piva TJ, Watters DJ, Santambrogio P, Arosio P, Ramm GA. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB-regulated signaling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):887-900. doi: 10.1002/hep.22716. PMID: 19241483; PMCID: PMC2701483.

111. Ruscitti P, Berardicurti O, Barile A, Cipriani P, Shoenfeld Y, Iagnocco A, Giacomelli R. Severe COVID-19 and related hyperferritinaemia: more than an innocent bystander? *Ann Rheum Dis*. 2020 Nov;79(11):1515-1516. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-217618. Epub 2020 May 20. PMID: 32434816.

112. Ruscitti P., Di Benedetto P., Berardicurti O., Panzera N., Grazia N., Lizzi A. R., Cipriani P., Shoenfeld Y., Giacomelli R., Pro-inflammatory properties of H-ferritin on human macrophages, ex vivo and in vitro, *Sci. Rep.*, 2020, 10 (1), 12232.

113. Sahu BR, Kampa RK, Padhi A, Panda AK. C-reactive protein: A promising biomarker for poor prognosis in COVID-19 infection. *Clin Chim Acta*. 2020 Oct;509:91-94. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.013. Epub 2020 Jun 5. PMID: 32511972; PMCID: PMC7274122.

114. Shakaroun DA, Lazar MH, Horowitz JC, Jennings JH. Serum Ferritin as a Predictor of Outcomes in Hospitalized Patients with Covid-19 Pneumonia. *J Intensive Care Med*. 2023 Jan;38(1):21-26. doi: 10.1177/08850666221113252. Epub 2022 Jul 11. PMID: 35815883; PMCID: PMC9274159.



115. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, Gong W, Liu X, Liang J, Zhao Q, Huang H, Yang B, Huang C. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020 Jul 1;5(7):802-810. doi: 10.1001/jamacardio.2020.0950. PMID: 32211816; PMCID: PMC7097841.

116. Shoenfeld Y. Corona (COVID-19) time musings: Our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning. *Autoimmun Rev.* 2020 Jun;19(6):102538. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102538. Epub 2020 Apr 5. PMID: 32268212; PMCID: PMC7131471.

117. Sorrentino S, Cacia M, Leo I, Polimeni A, Sabatino J, Spaccarotella CAM, Mongiardo A, De Rosa S, Indolfi C. B-Type Natriuretic Peptide as Biomarker of COVID-19 Disease Severity-A Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2020 Sep 12;9(9):2957. doi: 10.3390/jcm9092957. PMID: 32932743; PMCID: PMC7564464.

118. Tan C, Huang Y, Shi F, Tan K, Ma Q, Chen Y, Jiang X, Li X. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. *J Med Virol.* 2020 Jul;92(7):856-862. doi: 10.1002/jmv.25871. Epub 2020 Apr 25. PMID: 32281668; PMCID: PMC7262341.

119. 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):844-847. doi: 10.1111/jth.14768. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32073213; PMCID: PMC7166509.

120. Ulhaq ZS et al. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect.* 2020;50(4):382-383.

121. van Berkel M, Kox M, Frenzel T, Pickkers P, Schouten J. Biomarkers for antimicrobial stewardship: a reappraisal in COVID-19 times? *Crit Care Lond Engl.* 2020;24:600. doi: 10.1186/s13054-020-03291-w.

122. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020 May

2;395(10234):1417-1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5. Epub 2020 Apr 21. PMID: 32325026; PMCID: PMC7172722.

123. Vaughn VM, Gandhi T, Petty LA, Patel PK, Prescott HC, Malani AN, et al. Empiric antibacterial therapy and community-onset bacterial co-infection in patients hospitalized with COVID-19: a multi-hospital cohort study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2020 doi: 10.1093/cid/ciaa1239.

124. Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A Test in Context: D-Dimer. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Nov 7;70(19):2411-2420. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.024. PMID: 29096812

125. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 1 (21 January 2020). URL: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10\\_4](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4) (22.04.2020).

126. Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, Jaffe AS, Kavsak PA, Ordonez-Llanos J, Apple FS. Clinical Laboratory Practice Recommendations for the Use of Cardiac Troponin in Acute Coronary Syndrome: Expert Opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem*. 2018 Apr;64(4):645-655. doi: 10.1373/clinchem.2017.277186. Epub 2018 Jan 17. PMID: 29343532.],

127. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, Huang H, Zhang L, Zhou X, Du C, Zhang Y, Song J, Wang S, Chao Y, Yang Z, Xu J, Zhou X, Chen D, Xiong W, Xu L, Zhou F, Jiang J, Bai C, Zheng J, Song Y. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020 Jul 1;180(7):934-943. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994. Erratum in: *JAMA Intern Med*. 2020 Jul 1;180(7):1031. PMID: 32167524; PMCID: PMC7070509.

128. Xia W, Shao J, Guo Y, Peng X, Li Z, Hu D. Clinical and CT features in pediatric patients with COVID-19 infection: Different points from adults. *Pediatr*

Pulmonol. 2020 May;55(5):1169-1174. doi: 10.1002/ppul.24718. Epub 2020 Mar 5. PMID: 32134205; PMCID: PMC7168071.

129. Xu P., Zhou Q., Xu J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients // *Ann Hematol.* 2020. Vol. 99, N 6. P. 1205–1208. doi: 10.1007/s00277-020-04019-0.

130. Yao Y et al. D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study. *J Intensive Care.* 2020.

131. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2000 Dec 22;887(1):80-9. doi: 10.1016/s0006-8993(00)02970-x. PMID: 11134592.

132. Yunus I, Fasih A, Wang Y. The use of procalcitonin in the determination of severity of sepsis, patient outcomes and infection characteristics. *PLoS One.* 2018;13(11):e0206527.

133. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020 Apr;46(4):586-590. doi: 10.1007/s00134-020-05985-9. Epub 2020 Mar 3. PMID: 32125455; PMCID: PMC7079879.

134. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ, Akdis CA, Gao YD. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy.* 2020 Jul;75(7):1730-1741. doi: 10.1111/all.14238. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32077115.

135. Zhang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature.* 2010 Mar 4;464(7285):104-7. doi: 10.1038/nature08780. PMID: 20203610; PMCID: PMC2843437.

136. Zhang Y, Cao W, Xiao M, Li YJ, Yang Y, Zhao J, Zhou X, Jiang W, Zhao YQ, Zhang SY, Li TS. Clinical and coagulation characteristics in 7 patients with critical COVID-2019 pneumonia and acro-ischemia. *Zhonghua Xue Ye Xue*

Za Zhi. 2020 Apr 14;41(4):302-307. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.008. PMID: 32447934; PMCID: PMC7364914.

137. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol*. 2020 May;17(5):259-260. doi: 10.1038/s41569-020-0360-5. PMID: 32139904; PMCID: PMC7095524.].

138. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3. Epub 2020 Mar 11. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. PMID: 32171076; PMCID: PMC7270627.

139. Zhu L, She ZG, Cheng X, Qin JJ, Zhang XJ, Cai J, Lei F, Wang H, Xie J, Wang W, Li H, Zhang P, Song X, Chen X, Xiang M, Zhang C, Bai L, Xiang D, Chen MM, Liu Y, Yan Y, Liu M, Mao W, Zou J, Liu L, Chen G, Luo P, Xiao B, Zhang C, Zhang Z, Lu Z, Wang J, Lu H, Xia X, Wang D, Liao X, Peng G, Ye P, Yang J, Yuan Y, Huang X, Guo J, Zhang BH, Li H. Association of Blood Glucose Control and Outcomes in Patients with COVID-19 and Pre-existing Type 2 Diabetes. *Cell Metab*. 2020 Jun 2;31(6):1068-1077.e3. doi: 10.1016/j.cmet.2020.04.021. Epub 2020 May 1. PMID: 32369736; PMCID: PMC7252168.

140. Zhu Z, Cai T, Fan L, Lou K, Hua X, Huang Z, Gao G. Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis*. 2020 Jun; 95:332-339. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.041. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32334118; PMCID: PMC7195003.