

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Соснин Д.Ю., Ховаева Я.Б., Малютина Н.Н., Ватолин Д.М., Подъянова А.И., Энгаус Р.Е.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, 614990, Пермь, Россия

Роль процессов окислительного стресса и реакции антиоксидантной системы при развитии инфекции SARS-CoV-2 является одной из тем, требующей дальнейшего исследования. Представлены данные о состоянии общей антиоксидантной активности (АОС) сыворотки крови у 33 клинически здоровых людей и 32 пациентов, госпитализированных по поводу SARS-CoV-2. Уровень общей антиоксидантной активности исследовали с использованием набора реактивов «Общий антиоксидантный статус» (В-7501) компании АО «Вектор-Бест» (Россия). Уровень АОС был статистически достоверно снижен у пациентов, госпитализированных с инфекцией SARS-CoV-2 ($p=0,000543$). Медиана значений АОС и интерквартильный диапазон составили в основной группе 1,16 [0,98; 1,38] ммоль/л, против 1,45 [1,34; 1,56] ммоль/л в группе сравнения. Результаты АОС не различались между мужчинами и женщинами ни в основной группе, ни в группе сравнения ($p>0,05$). Формирование инфекции SARS-CoV-2 сопровождается истощением АОС сыворотки крови и патогенетически обосновывает использование препаратов с антиоксидантной активностью при терапии инфекции SARS-CoV-2.

Ключевые слова: *коронавирусная инфекция; COVID-19; антиоксидантная система; общий антиоксидантный статус; свободно-радикальные процессы; окислительный стресс.*

Для цитирования: Соснин Д.Ю., Ховаева Я.Б., Малютина Н.Н., Ватолин Д.М., Подъянова А.И., Энгаус Р.Е. Антиоксидантный статус сыворотки крови при новой коронавирусной инфекции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (1): 18-22. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-1-18-22>

Для корреспонденции: Соснин Дмитрий Юрьевич, д-р мед. наук, проф. каф. факультетской терапии № 2, проф. патологии и клин. лаб. диагностики; e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам компании АО «Вектор-Бест» за предоставление бесплатных наборов для выполнения лабораторных исследований АОС. Отдельную признательность выражаем Дегтевой Светлане Альбертовне, старшему научному сотруднику компании АО «Вектор-Бест» за консультации методического характера.

Поступила 04.07.2022

Принята к печати 25.08.2022

Опубликовано 20.01.2023

Sosnin D. Yu., Khovaeva Ya. B., Malyutina N. N., Pod'yanova A. I., Vatolin D. M., Engaus R. E.

ANTIOXIDANT STATUS OF BLOOD SERUM IN A NEW CORONAVIRUS INFECTION

E. A. Vagner Perm State Medical University, 614990, Perm, Russian Federation

The role of oxidative stress processes and the reaction of the antioxidant system in the development of SARS-CoV-2 infection is one of the topics requiring further research. Data on the state of total antioxidant activity of blood serum in 33 clinically healthy people and 32 patients hospitalized for SARS-CoV-2 are presented. The level of total antioxidant activity was studied using a set of reagents ELISA «Total Antioxidant Status» (B-7501) of «Vector-Best» (Russia). The level of total antioxidant activity was statistically significantly reduced in patients hospitalized with SARS-CoV-2 infections ($p=0.000543$). The median values of the total antioxidant activity and Q25-Q75 range were 1.16 (0.98; 1.38) mmol/L in the main group, versus 1.45 (1.34; 1.56) mmol/L in the comparison group. The results of total antioxidant activity did not differ between men and women neither in the main group nor in the comparison group ($p > 0,05$). The formation of SARS-CoV-2 infection is accompanied by depletion of total antioxidant activity in the blood serum and pathogenetically justify the use of drugs with antioxidant activity in the treatment of SARS-CoV-2 infection.

Key words: *coronavirus infection; COVID-19; antioxidant system; general antioxidant status; free radical processes; oxidative stress.*

For citation: Sosnin D. Yu., Khovaeva Ya. B., Malyutina N. N., Pod'yanova A. I., Vatolin D. M., Engaus R. E. Antioxidant status of blood serum in a new coronavirus infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (1): 18-22. (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-1-18-22>

For correspondence: Sosnin D. Yu., Dr. Sci. Med., Professor of the Department of Faculty therapy No. 2, occupational pathology and clinical laboratory diagnostics; e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Information about authors:

Sosnin D. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-1232-8826>;

Khovaeva Ya. B., <https://orcid.org/0000-0003-1186-3867>;

Malyutina N. N., <https://orcid.org/0000-0002-3475-2505>;

Pod'yanova A. I., <https://orcid.org/0000-0001-5410-2764>;

Vatolin D. M., <https://orcid.org/0000-0001-8965-5895>;

Engaus R. E., <https://orcid.org/0000-0001-9119-2500>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Funding. *The study had no sponsorship.*

Acknowledgment. *The authors express their gratitude to the employees of «Vector-Best» for providing free kits for performing laboratory tests of AOS. We would like to express our special gratitude to Svetlana Degteva, Senior Researcher at Vector-Best JSC, for methodological advice.*

Received 04.07.2022
Accepted 25.08.2022
Published 20.01.2023

Новая коронавирусная инфекция (НКИ, COVID-19), вызвавшая пандемию в 2020-2022 годах, инициировала выполнение ряда работ, в которых освещаются различные аспекты патогенетических и патохимических изменений, формирующихся при данной инфекции [1–4]. И хотя в ряде публикаций приводятся данные о важной роли интенсификации процессов свободно-радикального окисления [5–7], однако, при поиске данных литературы таких публикаций значительно меньше, чем других публикаций по проблеме COVID-19. Так, поиск по ключевым словам «новая коронавирусная инфекция» «COVID-19» в научной электронной библиотеке <https://www.elibrary.ru/> обнаружил 22 720 публикаций, однако, среди них только 4 содержали данные по значению оксидативного стресса при данной патологии. Аналогичные результаты обнаружены при анализе публикаций на сайте национального центра биотехнологической информации <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> и биомедицинской литературы <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Из 332 412 публикаций, обнаруженных по ключевому термину «COVID-19», только 17 477 сочетаются с ключевым словом оксидативный стресс («oxidative stress and COVID-19») и лишь 11 113 с ключевым словом антиоксидантная система («antioxidant system and COVID-19»). Большинство обнаруженных публикаций содержат различные данные об эффективности антиоксидантов при лечении НКИ [8 - 10]. Нами при поиске не обнаружено работ, приводящих результаты общего исследования антиоксидантной системы при COVID-19. Отсутствие подобных данных обосновывают перспективность исследований по данной проблеме.

Цель исследования: изучить антиоксидантный статус у пациентов, госпитализированных при развитии новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Материал и методы. Выполнено одномоментное наблюдательное исследование типа «случай-контроль». Исследование проведено с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной организации здравоохранения. В работе было использовано 65 проб сыворотки крови, хранившихся в клинико-диагностических лабораториях после выполнения всех назначенных исследований. «Остаточные» образцы сыворотки крови подвергали процедуре обезличивания и хранили в морозильной камере не более 14 суток до исследования при температуре минус 20 °С.

Исследование выполнено до появления штамма омикрон COVID-19 в Пермском крае, когда большинство госпитализированных были инфицированы штаммом дельта COVID-19.

Основная группа ($n=32$: 15 мужчин и 17 женщин) включала «остаточные» образцы от пациентов, госпитализированных с клиническими признаками вирусной пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) и поражением легких более 50% по результатам компьютерной томографии. Группу сравнения ($n=33$: 14 мужчин и 19 женщин) составили «остаточные» образцы клинически здоровых мужчин и женщин, не предъявлявших жалоб и проходивших периодический медицинский осмотр. Группы были сопоставимы по полу ($p=0,6069$) и возрасту (средний возраст в основной группе составил $52,3 \pm 9,20$ года, в группе сравнения $53,0 \pm 9,96$; $p=0,742583$).

Антиоксидантный статус (АОС) в сыворотке крови исследовали с использованием набора реактивов «Общий антиоксидантный статус» (В-7501) компании АО «Вектор-Бест» (Россия). В основе методики оценки АОС лежит реакция взаимодействия метмиоглобина с перекисью водорода, в ходе которой образуется радикал феррилмиоглобин, окисляющий диаммониевую соль 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфонокислоты) (АТSB) с образованием радикала АТSB^{•+}. Данная реакция сопровождается появлением зелено-голубого окрашивания, интенсивность которого измеряется фотометрическим методом при длине волны 600 (570-630) нм. Антиоксиданты, содержащиеся в биологическом материале, подавляют процессы генерации радикалов, что тормозит формирование окраски раствора. Угнетение скорости развития окрашивания раствора позволяет оценить суммарную активность антиоксидантов - антиоксидантный статус (АОС) сыворотки крови. Чувствительность использованной тест-системы не более 0,2 ммоль/л, диапазон измерений 0,25 – 2,50 ммоль/л. В качестве калибровочного материала в наборе использовался раствор синтетического антиоксиданта - тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота), который представляет собой водорастворимый аналог витамина Е [11].

Оптическую плотность проб регистрировали на термостабируемом программируемом автоматическом фотометре Miura (Италия). Контроль воспроизводимости и правильности выполнения исследований проверяли с помощью контрольного материала (В-7531) компании АО «Вектор-Бест» (Россия). Паспортные данные контрольного материала составили 1,69 ммоль/л при допустимом диапазоне колебаний 1,35-2,03 ммоль/л. При его исследовании уровень АОС составил 1,73, 1,44 и 1,62 ммоль/л, что свидетельствовало о приемлемой точности полученных результатов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA v. 7 (StatSoft Inc., США). Для каждого показателя рассчитывали параметры описательной статистики: среднюю арифметическую (M), стандартное отклонение (SD), медиану (Me) и интерквартильный диапазон [25%; 75% перцентиль], а также минимальное (min) и максимальное (max) значения. Данные оценивали на наличие и степень выраженности выбросов, характер распределения полученных результатов оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Полученные результаты позволили отвергнуть нулевую гипотезу о нормальном характере их распределения, что послужило обоснованием применения непараметрических методов при выполнении дальнейшего сравнительного статистического анализа. Независимые выборки сравнивали с использованием *U*-критерия Манна-Уилка. За максимально приемлемую вероятность ошибки первого рода (*p*) приняли величину уровня статистической значимости равную или меньшую 0,05.

Результаты. Медианы в группах обследованных различались в 1,24 раза ($p=0,000543$). Среднее значение и стандартное отклонение АОС у пациентов основной группы составило $1,21 \pm 0,32$ ммоль/л, медиана и интерквартильный диапазон составили 1,16 (0,98; 1,38) ммоль/л. Аналогичные значения для АОС группы сравнения составили соответственно $1,44 \pm 0,24$ ммоль/л, медиана и интерквартильный диапазон равнялись 1,45 (1,34; 1,56) ммоль/л. Результаты измерения АОС в основной группе колебались в диапазоне от 0,84 до 2,13 ммоль/л; коэффициент вариации равнялся 26,2%; в группе сравнения диапазон колебаний был уже в диапазоне от 0,89 до 1,78 ммоль/л, а коэффициент вариации составил 16,45% (рис. 1).

Установлено отсутствие различий АОС между мужчинами и женщинами, как в основной группе, так и в группе сравнения (см. таблицу).

Результаты исследования АОС практически не зависели от возраста обследованных, коэффициент ранговой корреляции Спирмена для всех обследованных составил $R=0,353319$. Статистически значимая и достоверная корреляция отсутствовала, как в основной группе ($R=0,140852$), так и в группе сравнения ($R=0,382756$).

Уравнение линейной регрессии (95% вероятность), характеризующее данную закономерность ($r = -0,1114$) (рис. 2), описывается формулой:

$$\text{Значение АОС (ммоль/л)} = 1,5049 - 0,0035 \times \text{возраст (годы)}.$$

Полученные данные демонстрируют снижение ОАС у госпитализированных пациентов с НКИ, что подтверждает развитие дисбаланса между интенсификацией окислительных процессов и истощением антиоксидантной системы организма.

Обсуждение. Известно, что по данным литературы поражения легких и респираторного тракта сопровождаются формированием окислительного стресса [12–14]. Патологические и патохимические нарушения при окислительном стрессе возникают при дисбалансе в окислительно-антиоксидантных системах. Накопление высокорективных молекул вызывает повреждение различных молекул: ДНК, липидов, белков и углеводов. Существуют хорошо зарекомендовавшие себя методы измерения окислительного стресса при болезненных состояниях, которые проявляются, например, увеличением количества продуктов перекисного окисления липидов, окислением ДНК и образованием белковых карбониллов в легочной ткани. Хотя

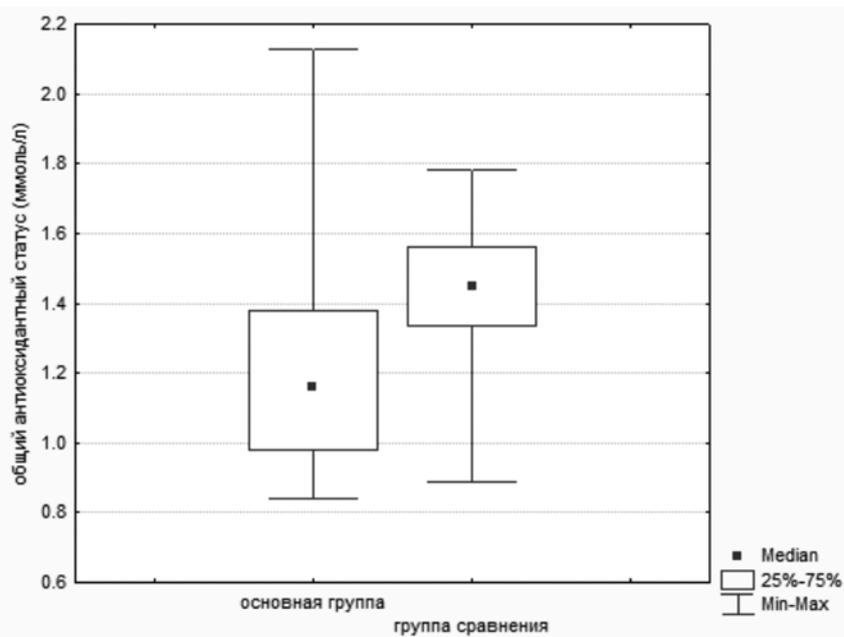


Рис. 1. Общий антиоксидантный статус сыворотки крови (в ммоль/л).

Характеристика антиоксидантного статуса между мужчинами и женщинами в группах обследованных

Группы	Основная группа (n = 32)	Группа сравнения (n = 33)	p
Мужчины	$1,18 \pm 0,31$ 1,18 (0,87; 1,38)	$1,44 \pm 0,27$ 1,49 (1,24; 1,73)	p=0,623486
	0,84 – 1,77	0,89 – 1,78	
Женщины	$1,23 \pm 0,33$ 1,16 (0,99; 1,38)	$1,43 \pm 0,21$ 1,44 (1,38; 1,53)	p=0,661872
	0,87 – 2,13	0,97 – 1,73	

Примечание. В числителе: среднее значение ± стандартное отклонение (M±SD); в знаменателе: медиана и интерквартильный диапазон (Me; (25%;75%). Под дробью минимальное и максимальное значение результата (min-max).

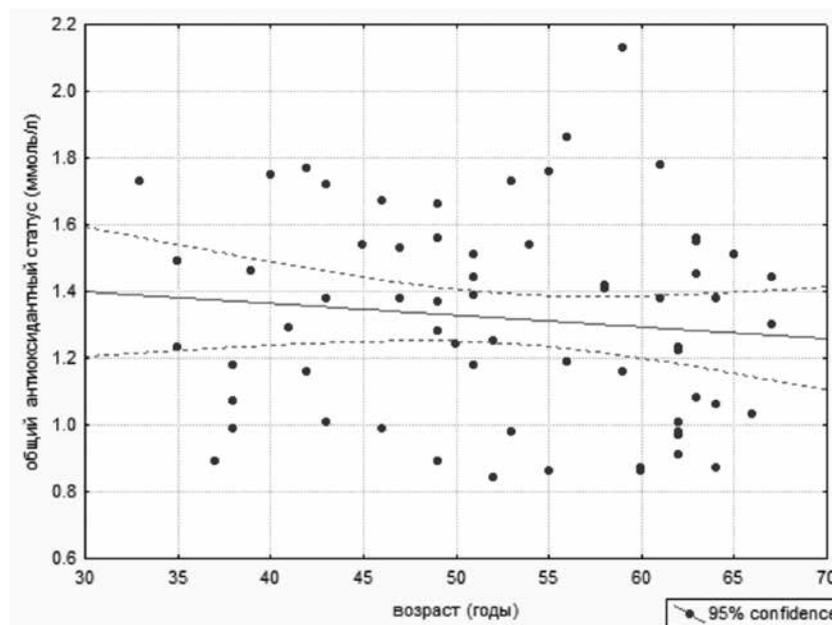


Рис. 2. Зависимость значения общего антиоксидантного статуса (в ммоль/л) от возраста обследованных.

перекисное окисление липидов может быть маркером избыточной продукции активных форм кислорода и свободных радикалов, окисленные липиды также являются молекулами, характеризующимися высокой биологической активностью. Например, изопростаины, группа простагландинов, формирующиеся при окислении жирных кислот, в основном арахидоновой, используются в качестве индикаторов интенсивности оксидативного стресса [15, 16]. Эти соединения при повышенных концентрациях способны вызывать бронхоконстрикцию и формировать гиперреактивность дыхательных путей при астме, а также мощную вазоконстрикцию при легочной артериальной гипертензии и остром повреждении легких [17, 18].

Инфекция, вызванная COVID-19, также сопровождается развитием оксидативного стресса, при котором формируются разнообразные свободные радикалы [19-21]. Исследованный нами ОАС является интегративным показателем, характеризующим содержание различных соединений, обладающих антиоксидантной активностью. Его величина зависит как от содержания белков, в частности, ферментативных антиоксидантов (каталазы, супероксиддисмутазы,

глутатионпероксидазы и других), так и неферментативных антиоксидантов, например, витаминов С, Е, а также эндогенных соединений характеризующихся антирадикальной активностью (восстановленный глутатион, мочевиная кислота, билирубин и другие). Их динамика зависит от множества факторов. Однако, учитывая обнаруженное нами достоверное снижение АОС ($p=0,000543$) суммарный антиоксидантный потенциал сыворотки крови снижается при COVID-19. Это может свидетельствовать о потреблении антиоксидантов для нейтрализации повышенной продукции свободных радикалов.

Учитывая, что подавляющее большинство ферментативных антиоксидантов являются внутриклеточными, и их высвобождение происходит в результате цитолиза, основной вклад в физиологических условиях в поддержание антиоксидантного потенциала сыворотки крови вносят неферментативные антиоксиданты. Большой разброс результатов в основной группе по сравнению с группой сравнения может объясняться самостоятельным применением пациентами с COVID-19 как различных жаропонижающих препаратов, содержащих высокие дозы витамина С, так

и употреблением большого количества напитков, при приготовлении которых используются растительные продукты, богатые природными антиоксидантами (лимон, чай, клюква, брусника и другие).

Учитывая противоречивые данные об эффективности различных антиоксидантов при терапии COVID-19 и полученные данные о снижении АОС, необходимо дальнейшее исследование корреляции степени снижения АОС в зависимости от тяжести заболевания и снижения уровня индивидуальных соединений с антиоксидантной активностью. Перспективным является дальнейшее изучение динамики индивидуальных антиоксидантов при COVID-19 с целью поиска оптимальных способов нормализации процессов свободно-радикального окисления.

Таким образом, полученные результаты подтверждают ранее опубликованные данные об активации свободно-радикальных процессов при НКИ и дополняют их данными о том, что на фоне COVID-19 происходит истощение антиоксидантной системы, что обосновывает возможный патогенетический эффект антиоксидантной терапии.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2-4, 7-21 см. REFERENCES)

1. Абатуров А.Е., Агафонова Е.А., Кривуша Е.Л., Никулина А.А. Патогенез COVID-19. *Здоров'я дитини*. 2020; 15(2):133-44.
5. Черняк Б.В., Попова Е.Н., Приходько А.С., Гребенчиков О.А., Зиновкина Л.А., Зиновкин Р.А. COVID-19 и окислительный стресс. *Биохимия*. 2020; 85(12):1816-28.
6. Щулькин А. В., Филимонова А. А. Роль свободно-радикального окисления, гипоксии и их коррекции в патогенезе COVID-19. *Терапия*. 2020; 6(5): 187-94.

REFERENCES

1. Abaturov A.E., Agafonova E.A., Krivusha E.L., Nikulina A.A. Pathogenesis of COVID-19. *Zdorov'ja ditini*. 2020; 15(2): 133-44. (in Russian)
2. Samudrala P.K., Kumar P., Choudhary K., Thakur N., Wadekar G.S., Dayaramani R., Agrawal M., Alexander A. Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. *Eur. J. Pharmacol.* 2020; 883: 173375.
3. Rahman S., Montero M.T.V., Rowe K., Kirton R., Kunik F. Jr. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2021; 14(5): 601-21.
4. Brüssow H. Immunology of COVID-19. *Environ Microbiol.* 2020 Dec; 22(12):4895-4908.

5. Chernyak B.V., Popova E.N., Prikhod'ko A.S., Grebenshchikov O.A., Zinovkina L.A., Zinovkin R.A. COVID-19 and oxidative stress. *Biochemistry (Moscow)*. 2020; 85(12):1816-28. (in Russian)
6. Shhul'kin A.V., Filimonova A. A. The role of free radical oxidation, hypoxia and their correction in the pathogenesis of COVID-19. *Terapiya*. 2020; 6(5): 187-94. (in Russian)
7. Fernandes I.G., de Brito C.A., Dos Reis V.M.S., Sato M.N., Pereira N.Z. SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: what does oxidative stress have to do with it? *Oxid. Med. Cell Longev.* 2020; 8844280.
8. Iddir M., Brito A., Dingo G., Fernandez Del Campo S.S., Samouda H., La Frano M.R., Bohn T. Strengthening the immune system and reducing inflammation and oxidative stress through diet and nutrition: considerations during the COVID-19 crisis. *Nutrients*. 2020 May 27; 12(6):1562.
9. Trujillo-Mayol I., Guerra-Valle M., Casas-Forero N., Sobral M. M. C., Viegas O., Alarcón-Enos J., MPLVO Ferreira I., Pinho O. Western dietary pattern antioxidant intakes and oxidative stress: importance during the SARS-CoV-2/COVID-19 pandemic. *Advances in Nutrition*. 2021; 12(3): 670-81.
10. Lammi C., Arnoldi A. Food-derived antioxidants and COVID-19. *Journal of Food Biochemistry*. 2021; 45(1): e13557.
11. Prior R.L., Wu X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53(10): 4290-4302.
12. Villegas L., Stidham T., Nozik-Grayck E. Oxidative stress and therapeutic development in lung diseases. *J. Pulm. Respir Med.* 2014; 4(4): 194.
13. Grobe A.C., Wells S.M., Benavidez E., Oishi P., Azakie A., Fine-man J.R., Black S.M. Increased oxidative stress in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension: role of NADPH oxidase and endothelial NO synthase. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2006; 290(6): L1069-77.
14. Gauthier M.A. Redox-responsive drug delivery. *Antioxid. Redox. Signal.* 2014; 21(5): 705-6.
15. Montuschi P., Barnes P.J., Roberts L.J. 2nd. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 2004; 18(15): 1791-1800.
16. Milne G.L., Musiek E.S., Morrow J.D. F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview. *Biomarkers*. 2005; 10 (Suppl. 1):10-23.
17. Janssen L.J. Isoprostanes and lung vascular pathology. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008 Oct; 39(4):383-9.
18. Janssen L.J., Catali A., Helli P. The pulmonary biology of isoprostanes. *Antioxid. Redox. Signal.* 2005 Jan-Feb; 7(1-2):244-55.
19. Suhail S., Zajac J., Fossum C., Lowater H., McCracken C., Severson N. et al. Role of oxidative stress on SARS-CoV (SARS) and SARS-CoV-2 (COVID-19) infection: a review. *The protein journal*. 2020; 39(6): 644-56.
20. Wu J. Tackle the free radicals damage in COVID-19. *Nitric Oxide*. 2020; 102: 39-41.
21. Schönrich G., Raftery M.J., Samstag Y. Devilishly radical NET-work in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Adv. Biol. Regul.* 2020; 77: 100741.