

© ПЕРЕГОЕДОВА В. Н., БОГОМОЛОВА И. К.

УДК 616.9-07-053.4

DOI: 10.20333/25000136-2023-3-84-92

Некоторые диагностические маркеры формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста

В. Н. Перегоедова, И. К. Богомолова

Читинская государственная медицинская академия, Чита 672000, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить возможности использования комплексного анализа содержания некоторых хемокинов сыворотки крови в качестве диагностических биомаркеров формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста.

Материал и методы. Мультиплексный анализ использовался для количественного определения содержания хемокинов CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) в сыворотке крови с помощью проточной цитометрии у детей с COVID-19 (основная группа, n=21), классифицированный как бессимптомные (n=7), легкие (n=7) и среднетяжелые (n=7) формы, по сравнению со здоровыми детьми (группа контроля, n=25).

Результаты. Уровни хемокинов CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) у дошкольников выше, чем у здоровых. Концентрация CXCL9 (MIG) и CXCL11 (I-TAC) не различалась между двумя группами. Не зарегистрировано статистически значимых различий между содержанием хемокинов сыворотки крови и тяжестью течения COVID-19. Комплексная оценка уровней CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) служит показателями ранней диагностики тяжести COVID-19 у детей.

Заключение. Определение иммунных биомаркеров может помочь дифференцировать различные варианты формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста на момент поступления в стационар. Подробный анализ хемокинового профиля представляет дополнительную информацию для оценки степени тяжести COVID-19 у детей, что будет определять дальнейшую тактику ведения пациентов.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, хемокины, дети, дошкольный возраст.

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

Для цитирования: Перегоедова В.Н., Богомолова И.К. Некоторые диагностические маркеры формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста. *Сибирское медицинское обозрение.* 2023;(3):84-92. DOI: 10.20333/25000136-2023-3-84-92

Some diagnostic markers of COVID-19 severity in preschool children

V. N. Peregodedova, I. K. Bogomolova

Chita State Medical Academy, Chita 672000, Russian Federation

The aim of the research. To study the possibility of complex analysis of some blood serum chemokines as diagnostic biomarkers of the severity of COVID-19 in preschool children.

Material and methods. Multiplex analysis was conducted for quantification of chemokines CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) in blood serum using flow cytometry in children with COVID-19 (main group, n=21; divided into asymptomatic (n=7), mild (n=7) and moderate (n=7) forms in comparison with healthy children (control group, n=25).

Results. The levels of chemokines CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) were higher in preschool children with COVID-19 than in healthy ones. The blood level of CXCL9 (MIG) and CXCL11 (I-TAC) did not differ between two groups. There were no statistically significant differences between the levels of separate chemokines and the severity of COVID-19. However, it has been shown that comprehensive assessment of CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) serves as an indicator of early diagnosis of the severity of COVID-19 in children.

Conclusion. Analysis of immune biomarkers can help differentiate the severity of COVID-19 in preschool children when they are admitted to a hospital. A detailed assessment of the chemokine profile provides additional information about the severity of COVID-19 in children that can help to determine further patient management.

Key words: coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, chemokines, children, preschool age.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Peregodedova VN, Bogomolova IK. Some diagnostic markers of COVID-19 severity in preschool children. *Siberian Medical Review.* 2023;(3):84-92. DOI: 10.20333/25000136-2023-3-84-92

Введение

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) является мощным индуктором провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые участвуют в защите от вирусных инфекций [1].

В настоящее время распознано и систематизировано 50 хемокинов и 20 хемокиновых рецепторов. Хемокины названы в соответствии с последней но-

менклатурой, которая классифицирует их по химической структуре: семейства C, CC, CXC и CX₃C [2].

Хемокины представляют собой низкомолекулярные белки, которые быстро секретируются различными клетками в ответ на вирусные или микробные инфекции, характеризуются значительным хемотаксическим эффектом [3]. Хемокины действуют как хемоаттрактанты при миграции клеток иммунной системы

во время воспаления, участвуют в развитии и функционировании врожденной и адаптивной иммунной системы, эмбриогенезе [4]. Хемокины играют важную роль в воспалительной реакции, привлекая лейкоциты в очаг инфекции, также способствуют гомеостатической циркуляции лейкоцитов в тканях [4,5].

Связывание хемокинов с хемокиновыми рецепторами, которые экспрессируются, в основном, на лейкоцитах и эндотелиальных клетках, обеспечивает хемоаттрактантную способность [6]. Многие функции хемокинов включают контроль пролиферации и дифференцировки клеток, регуляцию ангиогенеза, иммунных и воспалительных реакций [7].

Иммунная защита, связанная с хемокинами и хемокиновыми рецепторами, является основным препятствием для обхода вирусами. Кроме того, некоторые хемокины оказывают прямое противовирусное действие за счет активации апоптоза или прямого уничтожения инфицированных клеток активированными иммунными клетками [8]. В нескольких исследованиях изучалось участие хемокинов при коронавирусной инфекции у взрослых [9,10,11,12]. Выяснилось, что определенные хемокины играют решающую роль в развитии симптомов, связанных с COVID-19 и острым респираторным синдромом, вызванным коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), тем самым, подтверждая факты, ранее известные для других типов коронавирусов, таких как SARS и MERS [8].

В связи с чем, исследование хемокинов как важных факторов тяжести, течения и исходов коронавирусной инфекции у детей дошкольного возраста обосновывает научный интерес данной работы.

Цель исследования: оценить возможности использования комплексного анализа содержания некоторых хемокинов сыворотки крови в качестве диагностических биомаркеров формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста.

Материал и методы

Одноцентровое одномоментное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №101 от 15.04.2020г.). Каждый родитель/законный представитель ребенка предоставил письменное информированное добро-

вольное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Критерии включения в основную группу: лабораторно подтвержденная новая коронавирусная инфекция методом полимеразной цепной реакции мазков, взятых из ротоглотки и носоглотки; возраст от 0 до 6 лет; информированное добровольное согласие родителей ребенка на участие в исследовании.

Критерии включения в группу контроля: отрицательный результат на SARS-CoV-2 с помощью ПЦР, возраст от 0 до 6 лет; дети на момент обследования I-II группы здоровья (согласно заключению участкового педиатра); отсутствие инфекций дыхательных путей на протяжении последних 3 месяцев; подписанное информированное согласие родителей ребенка на участие в исследовании.

Всего в исследование включен 21 ребенок (основная группа) в возрасте 4,0 [3,0; 4,0] лет (52 % (11/21) девочек, 48 % (10/21) мальчиков) с подтвержденной коронавирусной инфекцией, поступивших в инфекционное отделение ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Читы, в апреле-июле 2020г. Пациенты основной группы разделены на подгруппы в зависимости от формы тяжести COVID-19: 1 подгруппа (n=7) включала детей, которые прошли тест ПЦР только из-за контакта в анамнезе, не имели признаков вирусной инфекции и не предъявляли никаких жалоб (бессимптомные); 2 подгруппа (n=7) – легкая форма тяжести, пациенты с симптомами поражения верхних дыхательных путей без признаков вирусной пневмонии или гипоксии; 3 подгруппа (n=7) – средняя степень, пациенты с подтвержденной пневмонией без потребности в кислороде. Тяжесть коронавирусной инфекции определялась в соответствии с методическими рекомендациями «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» (Версия 1 от 24.04.2020г.) [13]. В течение периода исследования Министерство здравоохранения Российской Федерации рекомендовало госпитализацию всех детей с COVID-19 для мониторинга, карантина, снижения рисков распространения новой коронавирусной инфекции даже при отсутствии клинических проявлений (бессимптомная форма) [14], поэтому

Таблица 1

Характеристика обследуемых групп детей

Table 1

Characteristics of the surveyed groups of children

| Показатели | Группа контроля (n=25) | Основная группа (n=21) | Тестовая статистика |
|---------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| Мужской пол | 44 % (11/25) | 52 % (11/21) | $\chi^2=0,321, p=0,571$ |
| Возраст, годы | 3,0 (2,9; 3,7) | 4,0 (3,0; 4,0) | $U=246,0, p=0,710$ |

Примечание: n – количество наблюдений; p – статистическая значимость различий; χ^2 - критерий хи-квадрат Пирсона.

Note: n is the number of observations; p is the statistical significance of differences; χ^2 - Pearson's chi-square test.

треть пациентов в нашей работе не имели симптомов заболевания. Тяжелых случаев за период исследования не наблюдалось.

В группу контроля отобраны 25 детей I-II группы здоровья при посещении педиатра во время планового осмотра в Центре здоровья ГУЗ «Детский клинический медицинский центр» (г. Чита) соответствующего возраста (3,0 [2,9; 3,7] лет) и пола (56 % (14/25) девочек, 44 % (11/25) мальчиков) (табл. 1).

Вирус SARS-CoV-2 выявлен в мазках из верхних дыхательных путей методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Диагноз новая коронавирусная инфекция основан на комплексе клинико-эпидемиологических, лабораторных и рентгенологических данных в соответствии с методическими рекомендациями [13].

Образцы крови детей основной группы получены утром (08:00-09:00) натощак с использованием системы Vacutainer (Kometaline, КНП) путем венепункции периферической вены в течение 48 часов от момента поступления в больницу после подписания информированного согласия. Образцы крови в качестве здоровых контролей для сравнения набраны в течение периода исследования. Тестирование проведено одномоментно после сбора биологического материала от всех участников на базе лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Уровни 10 хемокинов сыворотки крови: CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC); макрофагальный воспалительный белок - CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), хемотаксический белок эозинофилов - CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) количественно определены методом проточной флуориметрии на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США) с использованием панели LEGENDplexTM Human Proinflammatory Chemokine Panel 1 (BioLegend, США), каталожные номера 741080 и 741082, следуя инструкции фирмы-производителя. Количественное содержание цитокинов выражали в пикограмме вещества на миллилитр (пг/мл).

При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Статистический анализ полученных результатов выполнен с использованием пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, США) [15]. Учитывая численность исследуемых групп, анализ нормальности распределения признаков проведен с помощью критерия Шапиро-Уилка. Полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me (Q₁; Q₃) ввиду распределения признаков, отличного от нормального во всех исследуемых группах. Качественные данные опи-

саны с указанием абсолютных значений и процентных долей, сравнение качественных данных исследования выполнено при помощи критерия χ^2 Пирсона. Учитывая наличие малых выборок, для сравнения использовали хи-квадрат Пирсона с поправкой на правдоподобие. Для сравнения количественных показателей двух независимых групп использован критерий Манна-Уитни (U). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для сравнения четырех независимых групп по одному количественному признаку использовался ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (H). При наличии статистически значимых различий, проводилось попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни с учетом поправки Бонферрони ($p < 0,008$). Определенные в ходе исследования статистически значимые параметры включены в базу данных, которая легла в основу обучения многослойного перцептрона. Для оценки прогностической ценности разработанной технологии использовали ROC-анализ.

Результаты и обсуждение

Обнаружено (табл. 2), что циркулирующие концентрации хемокинов CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) статистически значимо выше у детей дошкольного возраста при коронавирусной инфекции по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Исходные уровни хемокинов CXCL9 (MIG) и CXCL11 (I-TAC) в основной группе находились в пределах референсных значений детей контрольной группы ($p = 0,070$ и $p = 0,120$ соответственно).

Провоспалительный хемокин CXCL1 (GRO α) статистически значимо повышен у детей основной группы в 2 раза по сравнению с группой контроля ($p = 0,005$), что совпадает с результатами, полученными у взрослых пациентов с COVID-19 [16].

Нами выявлены статистически значимо высокие концентрации CXCL5 (ENA-78) сыворотки крови детей с COVID-19, чем у пациентов группы контроля ($p < 0,001$). CXCL5 (ENA-78), участвующий в различных воспалительных заболеваниях и онкогенезе, продуцируется эпителиальными клетками легких и тромбоцитами во время воспаления легких [17]. Предыдущее исследование Mei et al. раскрыло критическую роль CXCL5 (ENA-78) в контроле удаления хемокинов и других цитокинов врожденного иммунитета против тяжелой бактериальной пневмонии [18]. CXCL5 (ENA-78) влияет на накопление В-лимфоцитов в легких, увеличивает концентрацию других нейтрофильных хемокинов в крови, регулируя приток нейтрофилов в легкие на стадии врожденного иммунитета во время пневмонии. Дефицит CXCL5 (ENA-78) приводит к повышенному накоплению В-лимфоцитов в инфицированных легких, способствуя усилению иммунного ответа В-клеток, и индуцирует образование ассоциированной с бронхами лимфоидной ткани в инфицированных легких на поздних стадиях инфекции и выздоровления [17].

По сравнению с контролем уровни медиаторов хемотаксиса нейтрофилов и моноцитов, CCL3 (MIP-1 α) и CCL4 (MIP-1 β), сыворотки крови в нашей работе статистически значимо выше показателей основной группы ($p < 0,001$). В отличие от ранее проведенного исследования [19], где при сравнении здоровых и детей с COVID-19 обнаружены более низкие уровни CCL4 (MIP-1 β) последних ($p = 0,006$). Однако концентрация CCL3 (MIP-1 α) статистически значимо выше у детей с COVID-19 по сравнению со взрослыми пациентами ($p = 0,045$) [19].

Нами установлено, что сывороточная концентрация CCL5 (RANTES) у дошкольников основной группы в 40 раз статистически значимо превышала аналогичный показатель группы контроля ($p < 0,001$). В работе Moratto D. et. al. показано значительное повышение уровня CCL5 (RANTES) как у детей, так и взрослых с COVID-19 по сравнению с контрольной группой [20]. Высокие концентрации CCL5 (RANTES) в крови на ранних стадиях инфекции SARS-CoV-2 предполагают его потенциальную роль в мобилизации Т-лимфоцитов и моноцитов в легкие, где CCL5 продуцируется в больших количествах, что объясняет его обнаружение в легочной ткани пациентов с инфекцией SARS-CoV-2. Доказано участие CCL5 (RANTES) в повреждении артерий и поддержании ответа Т-клеток CD8+ во время вирусной инфекции [20].

У детей дошкольного возраста с инфекцией SARS-CoV-2 в нашем исследовании содержание CCL11 (Eotaxin) статистически значимо превышало параметры контроля в 2,3 раза, что соответствует данным Venkataraman A. et. al. [21]. Повышенные уровни CCL11 (Eotaxin) в сыворотке крови и легочной ткани продемонстрированы и у взрослых пациентов с COVID-19

[9]. CCL11 (Eotaxin) приводит к высвобождению нейротоксина при дегрануляции эозинофилов, что потенциально может объяснить эозинопению и неврологические симптомы при COVID-19. [22].

Содержание CCL20 (MIP-3 α) в основной группе нашего исследования статистически значимо превышало аналогичный показатель группы контроля в 4,4 раза ($p = 0,002$). По сведениям индийских авторов дети с мультисистемным воспалительным синдромом, связанным с инфицированием SARS-CoV-2, демонстрировали повышенные уровни CCL20 (MIP-3 α) по сравнению с детьми с COVID-19 и здоровыми ($p < 0,001$) [21]. Недавно высказано предположение, что продукция CCL20 (MIP-3 α) инфицированными SARS-CoV-2 альвеолярными макрофагами или воспалительными макрофагами стимулирует привлечение Т-клеток в легкие и, таким образом, играет роль в устойчивом альвеолярном воспалении [23].

Далее мы исследовали содержание хемокинов у детей дошкольного возраста с различной степенью тяжести коронавирусной инфекции (табл. 3). Статистически значимых различий в сывороточных уровнях CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) среди подгрупп детей с COVID-19 не обнаружено ($p > 0,008$).

В отличие от взрослых, где установлена прямо пропорциональная связь между тяжестью COVID-19 и содержанием воспалительных хемокинов CXCL1 (GRO α) и CCL11 (Eotaxin) в сыворотке крови [10], нами, несмотря на увеличение концентрации CXCL1 (GRO α) и CCL11 (Eotaxin) в несколько раз относительно контрольных параметров, не получено статисти-

Таблица 2

Содержание хемокинов сыворотки крови у детей дошкольного возраста с COVID-19

Table 2

The content of blood serum chemokines in preschool children with COVID-19

| Исследуемый хемокин (пг/мл) | Группа контроля (n=25) | Основная группа (n=21) | Тестовая статистика |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------|
| CXCL1 (GRO α) | 34,9 [33,0; 81,1] | 75,4 [75,2; 169,1] | U=135,0 $p=0,005$ |
| CXCL5 (ENA-78) | 110,9 [106,8; 185,1] | 830,4 [830,1; 1471,5] | U=12,0 $p < 0,001$ |
| CXCL9 (MIG) | 12,7 [12,6; 15,5] | 12,5 [12,0; 14,9] | U=245,0 $p=0,070$ |
| CXCL11 (I-TAC) | 8,6 [8,4; 13,2] | 10,3 [10,3; 19,0] | U=192,0 $p=0,120$ |
| CCL3 (MIP-1 α) | 30,9 [30,9; 34,5] | 40,5 [40,1; 43,0] | U=38,0 $p < 0,001$ |
| CCL4 (MIP-1 β) | 20,9 [20,7; 22,0] | 28,5 [28,5; 29,4] | U=21,0 $p < 0,001$ |
| CCL5 (RANTES) | 1568,0 [1568,0; 3086,3] | 63885,6 [44616,8; 64006,0] | U=0,0 $p < 0,001$ |
| CCL11 (Eotaxin) | 47,8 [47,3; 63,5] | 110,9 [97,5; 123,0] | U=99,0 $p < 0,001$ |
| CCL17 (TARC) | 110,6 [110,6; 366,2] | 515,1 [430,8; 650,8] | U=159,0 $p=0,020$ |
| CCL20 (MIP-3 α) | 19,0 [19,0; 68,2] | 84,2 [81,9; 124,6] | U=120,0 $p=0,002$ |

чески значимых различий между тремя подгруппами детей с коронавирусной инфекцией ($p > 0,008$). В другом исследовании уровень CCL11 (Eotaxin), который участвует в привлечении эозинофилов в различные ткани, оказался повышен у пациентов с нетяжелым течением COVID-19 по сравнению с пациентами с тяжелыми формами заболевания. Ранее показано, что эозинопения может служить важным предиктором тяжести заболевания, а изменения количества эозинофилов значимо коррелируют с прогрессированием COVID-19 у пациентов. Более того, количество эозинофилов значительно ниже у пациентов с критическим заболеванием относительно пациентов с умеренными и тяжелыми случаями, а также невыжившими [16].

В работе Y. Yang уровни CXCL9 (MIG) и CCL3 (MIP-1 α) значительно повышены как у тяжелых, так и у критических пациентов, что расценивалось как «цитокиновый шторм» [11]. Собственные данные напротив, не выявили статистически значимой разницы в содержании CXCL9 (MIG) как по сравнению с группой

контроля, так и между подгруппами, что, вероятно, свидетельствует о более легком течении коронавирусной инфекции у детей, а также об отсутствии тяжелых случаев на момент выполнения исследования.

CCL4 (MIP-1 β) активируется до высоких уровней у пациентов с легкой по сравнению с тяжелой и/или критической формой COVID-19 [10]. В нашей когорте сывороточная концентрация CCL4 (MIP-1 β) статистически значимо повышена у детей с COVID-19 по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), но не имела различий между пациентами с разной формой тяжести коронавирусной инфекции ($p > 0,008$).

При инфицировании SARS-CoV-2 дошкольников мы наблюдали равномерно повышенное содержание CXCL5 (ENA-78) сыворотки крови независимо от степени тяжести COVID-19, в том числе при бессимптомном течении ($p < 0,05$). В другом исследовании обнаружены высокие уровни CXCL5 (ENA-78) у бессимптомных пациентов, чем при наличии симптомов [24].

Table 3

The content of blood serum chemokines in preschool children with COVID-19 depending on the severity

Таблица 3

Содержание хемокинов сыворотки крови у детей дошкольного возраста с COVID-19 в зависимости от степени тяжести

| Параметры исследования (пг/мл) | Группа контроля (n=25) | Основная группа (n=21) | | | Краскела-Уоллиса, df=3 | Тестовая статистика | |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|--|--|
| | | Подгруппа 1 (n=7) | Подгруппа 2 (n=7) | Подгруппа 3 (n=7) | | Манна-Уитни | |
| | | | | | | Сравнение с группой контроля | Сравнение исследуемых подгрупп |
| CXCL1 (GRO α) | 34,9 [33,0; 81,1] | 75,4 [73,0; 120,9] | 71,3 [49,0; 97,9] | 111,7 [61,9; 342,2] | H=8,98, p=0,030 | Ук-1=36,0, рк-1=0,019; Ук-2=61,0, рк-2=0,227; Ук-3=38,0, рк-3=0,024. | U1-2=18,0, p1-2=0,406; U1-3=23,0, p1-3=0,848; U2-3=17,0, p2-3=0,338. |
| CXCL5 (ENA-78) | 110,9 [106,8; 185,1] | 979,5 [787,4; 1236,8] | 578,2 [532,7; 1196,9] | 1035,5 [1035,5; 2463,4] | H=31,44, p<0,001 | Ук-1=3,0, рк-1<0,001; Ук-2=7,0, рк-2<0,001; Ук-3=2,0, рк-3<0,001. | U1-2=16,0, p1-2=0,277; U1-3=17,0, p1-3=0,338; U2-3=11,0, p2-3=0,085. |
| CXCL9 (MIG) | 12,7 [12,6; 15,5] | 9,2 [9,2; 14,4] | 16,5 [11,7; 17,7] | 12,5 [10,7; 16,5] | H=0,95, p=0,810 | Ук-1=70,0, рк-1=0,425; Ук-2=81,0, рк-2=0,767; Ук-3=81,0, рк-3=0,767. | U1-2=16,5, p1-2=0,306; U1-3=22,0, p1-3=0,749; U2-3=22,0, p2-3=0,749. |
| CXCL11 (I-TAC) | 8,6 [8,4; 13,2] | 10,4 [9,2; 16,1] | 9,8 [9,8; 21,3] | 8,7 [6,1; 28,4] | H=2,55, p=0,470 | Ук-1=59,0, рк-1=0,194; Ук-2=64,0, рк-2=0,284; Ук-3=69,0, рк-3=0,399. | U1-2=24,0, p1-2=0,949; U1-3=21,0, p1-3=0,655; U2-3=24,0, p2-3=0,949. |
| CCL3 (MIP-1 α) | 30,9 [30,9; 34,5] | 39,4 [38,6; 41,7] | 42,3 [40,0; 43,0] | 40,7 [38,7; 47,3] | H=24,78, p<0,001 | Ук-1=14,0, рк-1<0,001; Ук-2=11,0, рк-2<0,001; Ук-3=13,0, рк-3<0,001. | U1-2=17,0, p1-2=0,338; U1-3=21,0, p1-3=0,655; U2-3=20,0, p2-3=0,565. |
| CCL4 (MIP-1 β) | 20,9 [20,7; 22,0] | 27,9 [27,1; 28,3] | 30,7 [29,3; 30,7] | 28,9 [28,3; 30,2] | H=29,51, p<0,001 | Ук-1=7,0, рк-1<0,001; Ук-2=7,0, рк-2<0,001; Ук-3=7,0, рк-3<0,001. | U1-2=7,0, p1-2=0,025; U1-3=13,0, p1-3=0,142; U2-3=18,0, p2-3=0,406. |
| CCL5 (RANTES) | 1568,0 [1568,0; 3086,3] | 63617,7 [32194,7; 57221,4] | 61540,2 [33617,3; 63472,8] | 64585,3 [51795,5; 68047,5] | H=33,69, p<0,001 | Ук-1=0,0, рк-1<0,001; Ук-2=0,0, рк-2<0,001; Ук-3=0,0, рк-3<0,001. | U1-2=22,0, p1-2=0,749; U1-3=17,0, p1-3=0,338; U2-3=21,0, p2-3=0,655. |
| CCL11 (Eotaxin) | 47,8 [47,3; 63,5] | 110,9 [84,0; 124,8] | 91,0 [75,6; 113,7] | 149,0 [101,7; 161,5] | H=13,92, p=0,003 | Ук-1=32,0, рк-1=0,011; Ук-2=43,0, рк-2=0,042; Ук-3=24,0, рк-3=0,004. | U1-2=22,0, p1-2=0,750; U1-3=19,0, p1-3=0,482; U2-3=14,0, p2-3=0,180. |
| CCL17 (TARC) | 110,6 [110,6; 366,2] | 525,1 [340,5; 700,2] | 628,9 [450,4; 809,7] | 251,8 [204,6; 739,5] | H=7,04, p=0,070 | Ук-1=54,0, рк-1=0,127; Ук-2=37,0, рк-2=0,021; Ук-3=68,0, рк-3=0,374. | U1-2=17,0, p1-2=0,338; U1-3=16,0, p1-3=0,277; U2-3=14,0, p2-3=0,180. |
| CCL20 (MIP-3 α) | 19,0 [19,0; 68,2] | 107,6 [65,5; 127,1] | 47,0 [41,4; 115,6] | 89,2 [85,0; 184,9] | H=10,39, p=0,015 | Ук-1=40,0, рк-1=0,030; Ук-2=47,0, рк-2=0,065; Ук-3=33,0, рк-3=0,013. | U1-2=23,0, p1-2=0,848; U1-3=21,0, p1-3=0,655; U2-3=16,0, p2-3=0,277 |

Согласно нашим данным, провоспалительные хемокины CXCL17 (TARC) и CCL4 (MIP-1 β) статистически значимо повышены при COVID-19 у детей по сравнению с контрольной группой, что не противоречит результатам, полученным у детей при новой коронавирусной инфекции с нейropsychиатрическими симптомами [25].

Нами отмечено статистически значимое увеличение сывороточной концентрации CXCL11 (I-TAC) у детей, инфицированных SARS-CoV-2, относительно контрольной группы, независимо от формы тяжести. Zhang Y. продемонстрировал противоположную информацию о значительном повышении CXCL11 (I-TAC) пациентов с критическим течением заболевания по сравнению со среднетяжелой ($p=0,040$) и тяжелой ($p=0,030$) степенью тяжести, что может свидетельствовать о роли CXCL11 (I-TAC) в качестве потенциального раннего маркера разграничения критических и некритических случаев COVID-19 [12]. По результатам ROC-анализа в исследовании Önal P. значение AUC было значимым для IP-10. Соответственно, уровень IP-10 связан с тяжестью заболевания у детей при коронавирусной инфекции и предсказывал прогноз заболевания [26].

Таким образом, учитывая отсутствие статистической значимости различий при сравнении групп попарно, следует предположить, что прогнозирование тяжести течения новой коронавирусной инфекции у детей дошкольного возраста возможно только на основании комплексного анализа уровня хемокинов, к которым относятся CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α).

Методика прогнозирования степени тяжести COVID-19 создана на базе многослойного перцептрона, количество неверных предсказаний в процессе обучения которого составило 6,5 %. В состав обучаемой нейронной сети вошли 10 входных нейронов (CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α)), два скрытых слоя, содержащего 2 единицы, и 4 выходных нейрона (рис. 1).

В качестве функции активации как в скрытом, так и в выходном слое выступала сигмоида, в качестве функции ошибки – сумма квадратов. На основе значений предсказанной псевдовероятности, созданная нейронная сеть практически не испытывает трудно-

сти в прогнозировании тяжести течения COVID-19, что подтверждается высокой чувствительностью и специфичностью разработанной технологии прогнозирования течения коронавирусной инфекции у детей дошкольного возраста (табл. 4).

В нормированном пространстве площадь под ROC-кривой эквивалентна вероятности, что нейросеть присвоит больший вес случайно выбранной положительной сущности, чем случайно выбранной отрицательной, поэтому наглядная оценка площади под соответствующими ROC-кривыми также представляет практический интерес (рис. 2).

Учитывая результаты оценки эффективности разработанной технологии с помощью ROC-анализа, следует сказать, что комплексное измерение в сыворотке крови таких хемокинов, как, CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CXCL9 (MIG), CXCL11 (I-TAC), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α), лежащих в основе разработанной нейросети, позволяет эффективно предсказывать форму тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста в ранний доступный момент времени после получения положительного ПЦР-теста на SARS-CoV-2

Заключение

COVID-19 характеризуется интенсивной воспалительной реакцией с повышенными уровнями биомаркеров, указывающих на активацию различных типов иммунных клеток, включая моноциты/макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты и эпителиальные клетки. Продукция хемокинов, индуцированная SARS-CoV-2, наблюдалась не только у детей с клиническими симптомами, но и при отсутствии таковых. Повышенные уровни CXCL1 (GRO α), CXCL5 (ENA-78), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin), CCL17 (TARC), CCL20 (MIP-3 α) в бессимптомных случаях могут помочь выявить скрытые инфекции SARS-CoV-2, что поможет контролировать новые вспышки. Характер реакции хемокинов на разных стадиях заболевания может служить диагностическими маркерами для оценки тяжести и исхода у пациентов с COVID-19. Таким образом, использование комплексного анализа содержания некоторых хемокинов сыворотки крови в качестве диагностических биомаркеров формы тяжести COVID-19 у детей дошкольного возраста на ранней стадии заболевания может представлять полезную информацию для разработки конкретной стратегии лечения.

Таблица 4

Информативность разработанной технологии в прогнозировании течения COVID-19 у детей дошкольного возраста

Table 4

Informative value of the developed technology in predicting the course of COVID-19 in preschool children

| Исследуемые группы | AUC | Статистическая значимость | Чувствительность | Специфичность |
|-----------------------|-------|---------------------------|------------------|---------------|
| Здоровые | 1,000 | $p<0,001$ | 1,000 | 1,000 |
| Бессимптомное течение | 0,956 | $p<0,001$ | 1,000 | 0,825 |
| Легкое течение | 0,971 | $p<0,001$ | 0,855 | 1,000 |
| Среднетяжелое течение | 0,941 | $p<0,001$ | 1,000 | 0,925 |

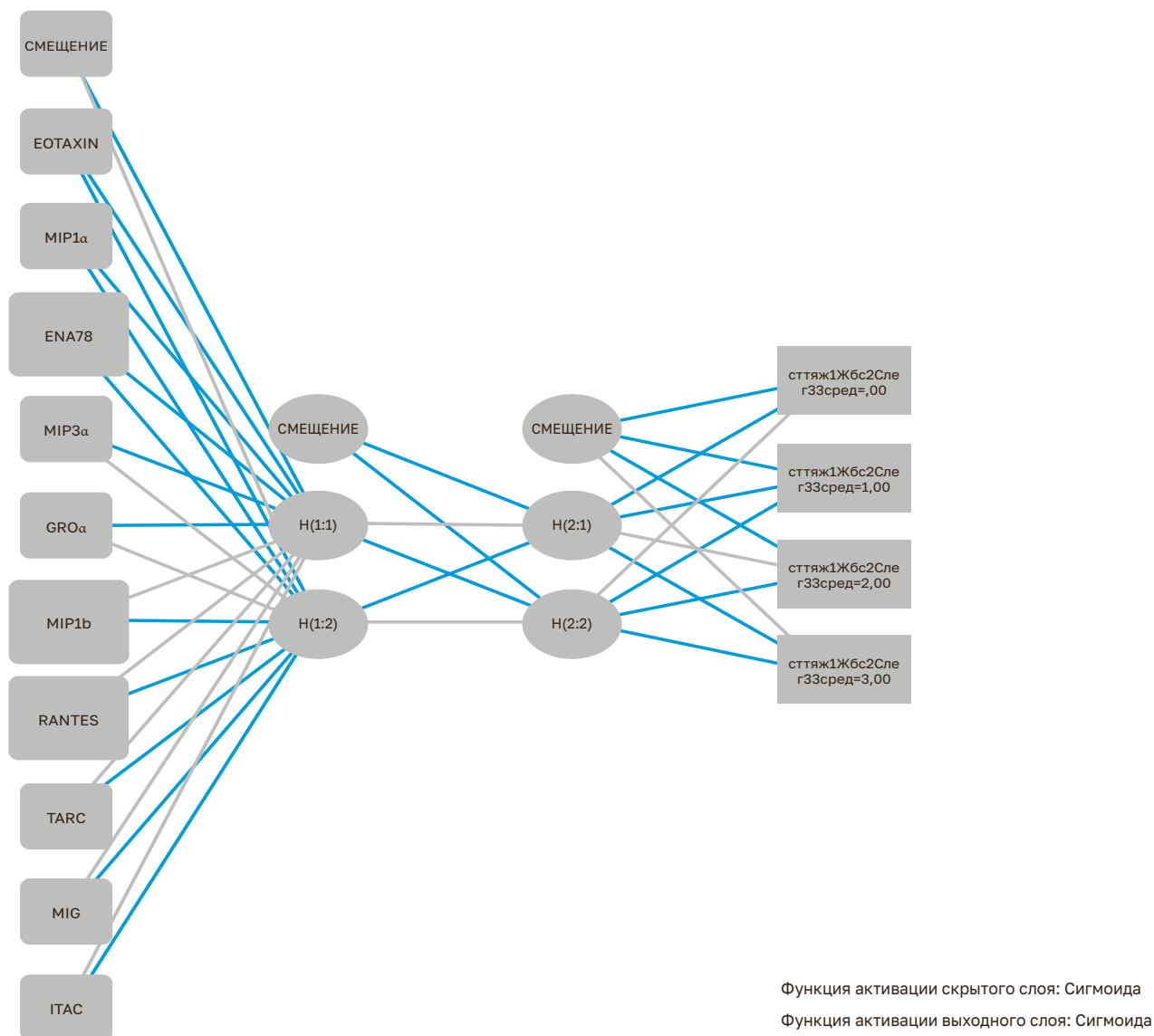


Рисунок 1. Конфигурация многослойного перцептрона.
 Figure 1. Multilayer perceptron configuration.

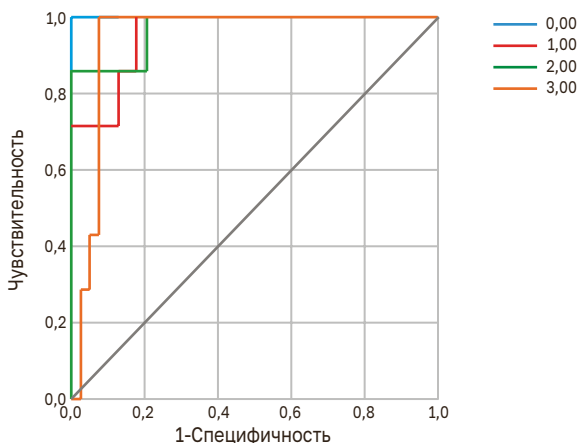


Рисунок 2. Площадь под ROC-кривыми.

Примечание: зависимая переменная: 0 – группа контроля, 1 – 1 подгруппа основной группы, 2 – 2 подгруппа основной группы, 3 – 3 подгруппа основной группы.

Figure 2. Area under the ROC curves.

Note: dependent variable: 0 - control group, 1 - 1 subgroup of the main group, 2 - 2 subgroup of the main group, 3 - 3 subgroup of the main group.

Литература / References

- Chi Y, Ge Y, Wu B, Zhang W, Wu T, Wen T, Liu J, Guo X, Huang C, Jiao Y, Zhu F, Zhu B, Cui L. Serum Cytokine and Chemokine Profile in Relation to the Severity of Coronavirus Disease 2019 in China. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020;4;222(5):746-754. DOI: 10.1093/infdis/jiaa363
- Bacon K, Baggiolini M, Broxmeyer H, Horuk R, Lindley I, Mantovani A, Maysushima K, Murphy P, Nomiyama H, Oppenheim J, Rot A, Schall T, Tsang M, Thorpe R, Van Damme J, Wadhwa M, Yoshie O, Zlotnik A, Zoon K; IUIS/WHO Subcommittee on Chemokine Nomenclature. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *Journal of interferon and cytokine research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2002;22(10):1067-8. DOI: 10.1089/107999002760624305
- Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Van Damme J, Mantovani A. Chemokine receptors: interaction with HIV-1 and viral-encoded chemokines. *Pharmaceutica acta Helveticae*. 2000;74(2-3):305-12. DOI: 10.1016/s0031-6865(99)00040-0
- Rotondi CF, Latrofa M, Chiovato L. Role of chemokines in thyroid cancer microenvironment: is CXCL8 the main player? *Frontiers in Endocrinology. (Lausanne)*. 2018; (9):314. DOI: 10.3389/fendo.2018.00314
- Rotondi M, Chiovato L, Romagnani S, Serio M, Romagnani P. Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases. *Endocrine Reviews*. 2007;28(5):492-520. DOI: 10.1210/er.2006-0044
- Bachelier F, Ben-Baruch A, Burkhardt AM, Combadiere C, Farber JM, Graham GJ, Horuk R, Sparre-Ulrich AH, Locati M, Luster AD, Mantovani A, Matsushima K, Murphy PM, Nibbs R, Nomiyama H, Power CA, Proudfoot AE, Rosenkilde MM, Rot A, Sozzani S, Thelen M, Yoshie O, Zlotnik A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIX. Update on the extended family of chemokine receptors and introducing a new nomenclature for atypical chemokine receptors. *Pharmacological Reviews*. 2013;11;66(1):1-79. DOI: 10.1124/pr.113.007724
- Tiberio L, Del Prete A, Schioppa T, Sozio F, Bosisio D, Sozzani S. Chemokine and chemotactic signals in dendritic cell migration. *Cellular and Molecular Immunology*. 2018;15(4):346-352. DOI: 10.1038/s41423-018-0005-3
- Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2020;(53):25-32. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.003
- Gebremeskel S, Schanin J, Coyle KM, Butuci M, Luu T, Brock EC, Xu A, Wong A, Leung J, Korver W, Morin RD, Schleimer RP, Bochner BS, Youngblood BA. Mast Cell and Eosinophil Activation Are Associated With COVID-19 and TLR-Mediated Viral Inflammation: Implications for an Anti-Siglec-8 Antibody. *Frontiers in Immunology*. 2021;10(12):650331. DOI: 10.3389/fimmu.2021.650331
- Xu ZS, Shu T, Kang L, Wu D, Zhou X, Liao BW, Sun XL, Zhou X, Wang YY. Temporal profiling of plasma cytokines, chemokines and growth factors from mild, severe and fatal COVID-19 patients. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020;19;5(1):100. DOI: 10.1038/s41392-020-0211-1
- Yang Y, Shen C, Li J, Yuan J, Wei J, Huang F, Wang F, Li G, Li Y, Xing L, Peng L, Yang M, Cao M, Zheng H, Wu W, Zou R, Li D, Xu Z, Wang H, Zhang M, Zhang Z, Gao GF, Jiang C, Liu L, Liu Y. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020;146(1):119-127.e4. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.04.027
- Zhang Y, Xu C, Agudelo Higuera NI, Bhattacharya R, Chakrabarty JH, Mukherjee P. Evaluation of I-TAC as a potential early plasma marker to differentiate between critical and non-critical COVID-19. *Cell Stress*. 2021; 21;6(1):6-16. DOI: 10.15698/cst2022.01.262
- Методические рекомендации: особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей; версия 1 (утв. Министерством здравоохранения Российской Федерации 24.04.2020). Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2020. Ссылка активна на 02.03.2023. [Guidelines: features of clinical symptoms and treatment of the disease caused by a new coronavirus infection (COVID-19) in children; version 1 (approved by the Ministry of Health of the Russian Federation 24.04.2020). Ministry of Health of the Russian Federation. 2020. Accessed March 02, 2023. (In Russian).] https://static-3.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/050/100/original/24042020_child_COVID-19_1_Final.pdf
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19 марта 2020 г. N 198н «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19». Ссылка активна на 02.03.2023. [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation №198n from March 19th 2020 «On the temporary procedure for organizing the work of medical organizations in order to implement measures to prevent and reduce the risks of the spread of a new coronavirus infection COVID-19». Accessed March 02, 2023. (In Russian)] <https://base.garant.ru/73769697/>
- Мудров ВА. Алгоритмы статистического анализа данных биомедицинских исследований с помощью пакета программ SPSS (доступным языком): учебное пособие. М. : Логосфера. 2022. 143 с. [Mudrov VA. Algorithms for statistical analysis of biomedical research data using the SPSS software package (in plain language): a tutorial. 2022. 143 p. (In Russian)]
- Kalinina O, Golovkin A, Zaikova E, Aquino A, Bezrukikh V, Melnik O, Vasilieva E, Karonova T, Kudryavtsev I, Shlyakhto E. Cytokine Storm Signature in Patients with Moderate and Severe COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;10;23(16):8879. DOI: 10.3390/ijms23168879

17. Guo L, Li N, Yang Z, Li H, Zheng H, Yang J, Chen Y, Zhao X, Mei J, Shi H, Worthen GS, Liu L. Role of CXCL5 in Regulating Chemotaxis of Innate and Adaptive Leukocytes in Infected Lungs Upon Pulmonary Influenza Infection. *Frontiers in Immunology*. 2021;18:12:785457. DOI: 10.3389/fimmu.2021.785457

18. Mei J, Liu Y, Dai N, Favara M, Greene T, Jeyaseelan S, Poncz M, Lee JS, Worthen GS. CXCL5 regulates chemokine scavenging and pulmonary host defense to bacterial infection. *Immunity*. 2010;23:33(1):106-17. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.07.009

19. Ozsurekci Y, Aykac K, Er AG, Halacli B, Arasli M, Oygur PD, Gürlevik S, Cura Yayla BC, Karakaya J, Alp A, Topeli A, Cengiz AB, Akova M, Ceyhan M. Predictive value of cytokine/chemokine responses for the disease severity and management in children and adult cases with COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(5):2828-2837. DOI: 10.1002/jmv.26683

20. Moratto D, Giacomelli M, Chiarini M, Savarè L, Sacconi B, Motta M, Timpano S, Poli P, Paghera S, Imberti L, Cannizzo S, Quiros-Roldan E, Marchetti G, Badolato R. Immune response in children with COVID-19 is characterized by lower levels of T-cell activation than infected adults. *European Journal of Immunology*. 2020;50(9):1412-1414. DOI: 10.1002/eji.202048724

21. Venkataraman A, Kumar NP, Hanna LE, Putlibai S, Karthick M, Rajamanikam A, Sadasivam K, Sundaram B, Babu S. Plasma biomarker profiling of PIMS-TS, COVID-19 and SARS-CoV2 seropositive children - a cross-sectional observational study from southern India. 2021;(66):103317. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103317

22. Lippi G, Henry BM. Eosinophil count in severe coronavirus disease 2019. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*. 2020;1;113(7):511-512. DOI: 10.1093/qjmed/hcaa137

23. Grant RA, Morales-Nebreda L, Markov NS, Swaminathan S, Querrey M, Guzman ER, Abbott DA, Donnelly HK, Donayre A, Goldberg IA, Klug ZM, Borkowski N, Lu Z, Kihshen H, Politanska Y, Sichizya L, Kang M, Shilatifard A, Qi C, Lomasney JW, Argento AC, Kruser JM, Malsin ES, Pickens CO, Smith SB, Walter JM, Pawlowski AE, Schneider D, Nannapaneni P, Abdala-Valencia H, Bharat A, Gottardi CJ, Budinger GRS, Misharin AV, Singer BD, Wunderink RG; NU SCRIPT Study Investigators. Circuits between infected macrophages and T cells in SARS-CoV-2 pneumonia.

Nature. 2021;590(7847):635-641. DOI: 10.1038/s41586-020-03148-w

24. Soares-Schanoski A, Sauerwald N, Goforth CW, Periasamy S, Weir DL, Lizewski S, Lizewski R, Ge Y, Kuzmina NA, Nair VD, Vangeti S, Marjanovic N, Cappuccio A, Cheng WS, Mofsowitz S, Miller CM, Yu XB, George MC, Zaslavsky E, Bukreyev A, Troyanskaya OG, Sealfon SC, Letizia AG, Ramos I. Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection Is Associated With Higher Levels of Serum IL-17C, Matrix Metalloproteinase 10 and Fibroblast Growth Factors Than Mild Symptomatic COVID-19. *Frontiers in Immunology*. 2022;5(13):821730. DOI: 10.3389/fimmu.2022.821730

25. Ngo B, Lapp SA, Siegel B, Patel V, Hussaini L, Bora S, Philbrook B, Weinschenk K, Wright L, Anderson EJ, Rostad CA, Gombolay GY. Cerebrospinal fluid cytokine, chemokine, and SARS-CoV-2 antibody profiles in children with neuropsychiatric symptoms associated with COVID-19. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2021;(55):103169. DOI: 10.1016/j.msard.2021.103169

26. Önal P, Kılınç AA, Aygün FD, Aygün F, Durak C, Akkoç G, Ağbaş A, Eevli M, Çokuğraş H. Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Coronavirus Disease 2019 in Children. *Journal of Tropical Pediatrics*. 2022;3;68(2):fmac003. DOI: 10.1093/tropej/fmac003

Сведения об авторах

Переогодова Валентина Николаевна, к.м.н., доцент кафедры педиатрии лечебного и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия; адрес: Российская Федерация, 672000, г. Чита, ул. Горького, д. 39а; тел.: +7-914-494-04-34; тел.: +7(3022)354324; e-mail: v.peregoedova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9684-2864>

Богомолова Ирина Кимовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой педиатрии лечебного и стоматологического факультетов, Читинская государственная медицинская академия; адрес: Российская Федерация, 672000, г. Чита, ул. Горького, д. 39а; тел.: +7(3022)354324; e-mail: bogomolova_ik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4668-6071>

Authors information

Valentina N. Peregoedova, Cand. of Med. Sci., Associate Professor at the Pediatrics Department of Dental and Medical Faculties, Chita State Medical Academy; Address: 39a, Gorkogo Str., Chita, Russian Federation 672000; Phone: +7-914-494-04-34; +7(3022)354324; e-mail: v.peregoedova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9684-2864>

Irina K. Bogomolova, Dr. of Med. Sci., Professor, Head of the Pediatrics Department of Dental and Medical Faculties, Chita State Medical Academy; Address: 39a, Gorkogo Str., Chita, Russian Federation 672000; Phone: +7(3022)354324; e-mail: bogomolova_ik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4668-6071>

Дата поступления 03.03.2023

Дата рецензирования 03.05.2023

Принято к публикации 25.05.2023

Received 03 March 2023

Revision Received 03 May 2023

Accepted 25 May 2023