

# Виявлення антитіл до вірусу SARS-COV-2 у хворих на ішемічну хворобу серця та системні ревматичні захворювання до розвитку пандемії COVID-19

В.М. Корнацький, Н.О. Рижкова, О.М. Пархоменко, О.М. Ломаковський,  
А.М. Дорохіна, Ю.В. Корнацький, В.Г. Левченко, А.В. Романовський

ДУ ННЦ «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини ім. акад. М.Д. Стражеска НАМН України», Київ; e-mail: tala.ruzh@gmail.com

*Сезонні коронавіруси можуть слугувати інформаційною моделлю для визначення тривалості захисту від повторного зараження під час майбутніх хвиль коронавірусної хвороби. Набори для імуноферментного аналізу, призначені для виявлення антитіл до вірусу SARS-CoV-2, можуть реагувати і на сезонні коронавіруси. Метою нашої роботи було провести ретроспективне дослідження для визначення наявності імуноглобулінів G і M до коронавірусів в Україні до пандемії COVID-19. Дослідження проведено на 321 сироватці пацієнтів різного кардіоревматологічного профілю, що перебували на лікуванні в стаціонарі за період 2013–2018 рр. Отримані результати свідчать про можливість перехресного імунітету серед коронавірусів і їх вірогідний вплив на серцеві судинні захворювання. Антитіла до вірусу SARS-CoV-2 мали 3,3% пацієнтів на гострий інфаркт міокарда, 5,9% з системними ревматологічними захворюваннями та 27,3% із стабільною формою ішемічної хвороби серця.  
Ключові слова: коронавірус; серцево-судинні захворювання; антитіла.*

## ВСТУП

Сезонні коронавіруси можуть служити інформаційною моделлю для визначення тривалості захисту від повторного зараження під час майбутніх хвиль коронавірусної хвороби (COVID-19). Існує чотири види сезонних коронавірусів (sCoV) – HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 і HCoV-NKU1, – усі вони можуть спричиняти легкі інфекції дихальних шляхів, але в іншому генетично та біологічно різні. Вони належать до двох різних таксономічних родів і використовують різні рецепторні молекули з різним тропізмом клітин-господарів [1]. Проте за останні два десятиліття з'явилися три високопатогенні коронавіруси, що підкреслює пандемічний потенціал цієї сім'ї вірусів. Інфекція коронавірусом типу 1 тяжкого гострого респіраторного синдрому (SARS-CoV-1) і коронавірусом Близькосхідного респіраторного синдрому

(MERS-CoV) може призвести до гострого респіраторного дистрес-синдрому та смерті з летальним результатом від 10 до 40%. SARS-CoV-2 є більш трансмісивним, ніж SARS-CoV-1 і MERS-CoV, і станом на листопад 2020 р. став причиною понад 50 млн випадків і 1,2 млн смертей у всьому світі [2–5]. Незважаючи на використання різних рецепторів господаря для проникнення в клітину, всі sCoV експресують спайковий S-білок на своїй поверхні. Він складається з двох субодиниць: S1 містить рецептор зв'язуючий домен (RBD), який відповідає за зв'язування з рецепторами клітини-господаря, а S2 має вирішальне значення для опосередкування злиття мембрани вірусу та клітини-господаря для проникнення в клітину. Пептид субодиниці S2 є висококонсервативним серед sCoV та зоонозних коронавірусів, включаючи SARS-CoV-2, тоді як S1 є більш варіабельним [6]. Описано захисний ефект попередніх інфекцій

сезонними коронавірусами людини проти інфекції SARS-CoV-2, а також зв'язок між ними та менш важкою хворобою COVID-19. Найбільш вражаючим результатом було те, що вміст антитіл до всіх протестованих коронавірусів, включаючи новий SARS-CoV-2, показали дуже значну кореляцію один з одним [7]. Більше того проведені дослідження підтверджують існування перехресно-реактивного гуморального імунітету до HCoV та SARS-CoV-2 [6], а антитіла проти sCoV можуть сприяти нейтралізації SARS-CoV-2 [8]. Враховуючи вищесказане, ми припускаємо, що ІФА-набори (для імуноферментного аналізу) призначені для виявлення антитіл до SARS-CoV-2 можуть реагувати і на сезонні коронавіруси в Україні.

Метою нашою роботи було провести ретроспективне дослідження для визначення антитіл до вірусу SARS-CoV-2 як вірогідний показник перехресного імунітету серед коронавірусів у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) та системні ревматичні захворювання до розвитку пандемії COVID-19.

## МЕТОДИКА

Проведено дослідження 321 сироватки пацієнтів різного кардіологічного профілю, що перебували на лікуванні в ДУ ННЦ «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини» за період 2013–2019 рр. Серед них було 177 хворих на гострий інфаркт міокарда (ГІМ), 40 – хронічну ІХС та 34 – системні ревматологічні захворювання. До контрольної групи ввійшли 70 пацієнтів, які були направлені на консультацію до кардіолога, але патології цього профілю у них не було виявлено. Дослідження відбувались у відділі імунології з дотриманням норм біоетики (протокол №12 від 16.02.2023).

Забір крові проводився згідно зі стандартною процедурою з відповідною обережністю. Кров збирали в стерильну пробірку. Сироватки пацієнтів зберігалися при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Заморожені зразки перед використанням розморожували

та витримали за кімнатної температури впродовж 30 хв. Після розморожування їх перемішували задля досягнення однорідності. Не використовували сироватки з вираженою ліпідемією, гемолізом та бактеріальним проростом.

Наявність імуноглобулінів G і M (IgG і IgM) з вирахуванням індексу позитивності (ІП) проводили з використанням наборів для імуноферментного аналізу «EQUI SARS-CoV-2 IgG» та «EQUI SARS-CoV-2 IgM» (Україна). Виріб використовується для виявлення антитіл класу IgG та IgM до нуклеокапсидного та «шипового» (S1) антигенів вірусу SARS-CoV-2. ІП, згідно з інструкцією до наборів,  $<0,9$  вважається негативним (в нашому дослідженні оцінювали як нульовий показник – 0),  $0,9-1,1$  – сумнівний,  $>1,1$  – позитивний. Максимальне значення можливе 12,0. Ми розцінювали ІП  $<4,0$  як низький вміст антитіл,  $4,0-7,0$  – середній,  $>7,0$  – високий.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики і програми Microsoft Excel, представляли як середнє значення  $\pm$  помилка середньої арифметичної ( $M \pm m$ ). Відмінності між вибірками групами вважали вірогідними при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження показали, що у всіх обстежених контрольної групи антитіла до SARS-CoV-2 були відсутні. У хворих на ГІМ у 5 осіб (3,3%) виявлено IgG, але низького значення. ІП становив  $1,3 \pm 0,2$  ум. од. (від 0,9 до 2,0). В однієї людини були сумнівні IgM. У пацієнтів з системними ревматологічними захворюваннями IgG були у 2 хворих (5,9%) IgM ні в кого не було. ІП сягав низьких значень (1,4 та 1,6). У роботі шведських вчених показано, що sCoV спостерігаються у 3,9% і становлять 8,1% від усіх виявлень вірусів [3]. Найчастіше виявляли OC43 (28,4%), потім NL63 (24,0%), HKU1 (17,6%), і 229E (15,3%). Загальна частка позитивних

зразків була подібною між сезонами, але на рівні видів існували чіткі дворічні пікові сезони для  $\alpha$ -коронавірусів, 229E і NL63, і  $\beta$ -коронавірусів, OC43 і HKU1 відповідно.  $\beta$ -Коронавіруси досягли піку на початку зимового сезону (грудень-січень), тоді як  $\alpha$ -коронавіруси – наприкінці (лютий-березень) [3]. Враховуючи ці дані ми вважаємо, що сезонні коронавіруси не впливали на розвиток ГІМ та системних ревматологічних захворювань.

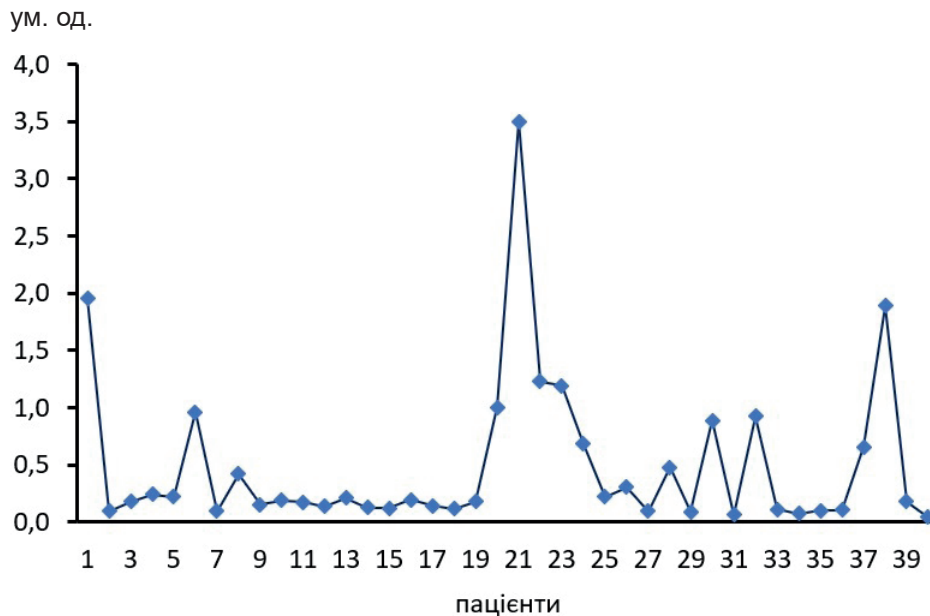
У попередній нашій праці [9] ми показали наявність низького вмісту антитіл до SARS-CoV-2 серед співробітників Інституту на початку пандемії в період з червня по вересень 2020 р. Клінічні прояви хвороби та позитивний ПЛР-тест за вказаний період мали лише 0,76% обстежених. Проте антитіла виявлено у 7,6% співробітників. У більшості обстежених не було клінічних проявів коронавірусної хвороби, вони мали негативний ПЛР-тест. Ми зазначали, що 30,8% з них протягом року захворіли на Covid-19 з вираженою клінічною картиною та позитивним ПЛР-тестом. Подальші спостереження за цими співробітниками показали, що до лютого 2022 р. на Covid-19 захворіли щонайменше 50% з цієї групи. Наразі ми припускаємо, що протягом року перед обстеженням вони перенесли sCoV, який у дорослих проходить легко або безсимптомно.

Показано, що вже існуючі антитіла, головним чином IgG, можуть реагувати з SARS-CoV-2 і є в сироватці крові людей, які ще не контактували з вірусом [10–12]. Проведено експеримент, щоб виключити інфекції неспецифічного зв'язування, і виявлено, що антитіла взаємодіяли з білком S звичайного sCoV у більшості осіб, які не зазнали впливу SARS-CoV-2. Антитіла до SARS-CoV-2 були розпізнані в сироватці дорослих, включаючи фрагмент S1 і S2, домен RBD білка S і неструктурні білки. На додаток було показано, що білок N також викликає цей тип імунної відповіді. Приблизно 20% осіб мали антитіла, які можуть перехресно реагувати з білками S

і N SARS-CoV-2. Попередній імунітет після перехресної імунної реакції з SARS-CoV-2 в основному спричинений застудою на sCoV. Були показані захисні ефекти перехресно реактивних антитіл, що є результатом звичайної інфекції sCoV [10–12]. Хоча повторне зараження sCoV відбувається протягом життя, а будь-який потенційний перехресний захист може бути короткочасним, це означає невеликий перехресний захисний ефект. Дані літератури свідчать про те, що повторне зараження найчастіше траплялося через 12 міс після зараження, а найбільш ранішим моментом повторного зараження сезонними коронавірусами було 6 міс [1].

Результати групи пацієнтів з хронічною ІХС виявилися несподіваними, бо 27,3% (11 осіб) обстежених мали ті чи інші антитіла до SARS-CoV-2. При цьому ІІІ IgG був низьким і становив  $1,2 \pm 0,1$  (від 0,9 до 3,5). У 2 людей виявлено IgM з ІІ 1,1 та 1,7 ум. од. (рисунок).

Відповідно до відсутності подібних даних у літературі, питання впливу sCoV на серцево-судинні захворювання взагалі не вивчалось. Є багато відомостей, що вирішальну роль у життєвому циклі коронавірусів відіграють специфічні клітинні білки. Наприклад, ангіотензинперетворюючий фермент 2 (ACE2) використовується як рецептор проникнення вірусу для NL63, SARS-CoV-1 і SARS-CoV-2. Клітинні протеази, такі як TMPRSS2, катепсин L і фурін важливі для розщеплення вірусу S-білка кількох коронавірусів, тим самим опосередковуючи ефективно злиття мембрани з клітинами-господарями. Поступово ідентифікуються інші фактори хазяїна, які функціонально необхідні для вірусної інфекції та можуть бути мішенями для спрямованої терапії. Дані показують, що хоча коронавіруси використовують різні фактори проникнення, вони залежать і від конвергентного набору шляхів господаря. Генетичні та фармакологічні експерименти довели, що коронавіруси потребують клітинного холестерину для ефективного проникнення. Так, було виявлено зв'язування вірусних білків з



Вміст IgG до SARS-CoV-2 за індексом позитивності у хворих на хронічну ішемічну хворобу серця

регулятором холестерину SCAP. Враховуючи важливість останнього для інфекції, взаємодіючи вірусні білки, ймовірно, регулюють активність SCAP і вміст холестерину [5, 13]. Клінічні дослідження виявили покращення стану пацієнтів з коронавірусною хворобою, які отримували статини, що знижують вміст холестерину. Фармакологічне інгібування гомеостазу холестерину знижує реплікацію коронавірусів. Ці знахідки є важливими для розуміння життєвого циклу цих мікроорганізмів та розробки адекватної терапії [14, 15].

Таким чином, отримані результати свідчать про можливість перехресного імунітету серед коронавірусів і їх вірогідний вплив на серцево-судинні захворювання, а особливо хронічної ІХС, оскільки 27,3% пацієнтів мали антитіла до коронавірусу.

Вплив sCoV на кардіальну патологію потребує подальших досліджень. Питання негативного впливу інфекцій на серцево-судинні захворювання обговорюється вже давно. Дослідження показують, що багато вірусних інфекцій здатні провокувати кардіальне ушкодження та пов'язані з цим серцево-судинні події [16, 17]. Виявлення

факторів-господарів, спільних для багатьох коронавірусів, сприятиме розробці методів лікування для боротьби з нинішніми та майбутніми пандеміями коронавірусу. Попередньо існуючі антитіла можуть допомогти захистити організм від інфекції SARS-CoV-2, зменшити тяжкість COVID-19 і швидко підвищити імунну відповідь після інфікування. Не можна ігнорувати наявність у популяції вже існуючих антитіл і клітин імунної пам'яті, ефективних проти SARS-CoV-2. Звичайні sCoV інфікують людей і виробляють антитіла та Т/В-клітини пам'яті, які, ймовірно, перехресно реагують з SARS-CoV-2. Ці численні ефекти можуть безпосередньо вплинути на прогресування захворювання та навіть на ймовірність смерті у деяких людей [12].

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**V.M. Kornatskyi, N.O. Ryzhkova,  
O.M. Parkhomenko, O.M. Lomakovsky,  
A.M. Dorokhina, Yu.V. Kornatskyi,  
V.G. Levchenko, A.V. Romanovskyi**

**DETECTION OF ANTIBODIES TO  
SARS-COV-2 VIRUS IN PATIENTS  
WITH CORONARY HEART DISEASE  
AND SYSTEMIC RHEUMATIC DISEASES  
BEFORE THE ONSET OF THE COVID-19  
PANDEMIC**

*SI National Scientific Center M.D. Strazhesko Institute of  
Cardiology of the National Academy of Medical Sciences of  
Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: tala.ruzh@gmail.com*

Seasonal coronaviruses may serve as an informative model for determining the duration of protection against reinfection during future waves of coronavirus disease. Data from the literature suggest that ELISA kits designed to detect antibodies to SARS-CoV-2 may also be sensitive to seasonal coronaviruses. The aim of our work was to perform a retrospective study to determine the presence of IgG and IgM to coronaviruses in Ukraine before the COVID-19 pandemic. The study was conducted on the serum of 321 patients with various cardiorheumatologic profiles who were treated in a hospital during 2013-2018. The obtained data indicate the possibility of cross-immunity among coronaviruses since antibodies to this virus were present in 3.3% of patients with acute myocardial infarction, 5.9% with systemic rheumatological diseases, and 27.3% with chronic coronary heart disease.

Key words: coronavirus; cardiovascular diseases; antibodies.

**REFERENCES**

1. Edridge A, Kaczorowska J, Hoste A, Bakker M, Klein M, Loens K, et al. Seasonal coronavirus protective immunity is short-lasting. *Nat Med.* 2020; 26: 1691-3.
2. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt H, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 2003;348(20):1967-76.
3. Dyrdak R, Hodcroft EB, Wahlund M, Neher RA, Albert J. Interactions between seasonal human coronaviruses and implications for the SARS-CoV-2 pandemic: A retrospective study in Stockholm, Sweden. 2009-2020. *J Clin Virol.* 2021;136:104754.
4. Petersen E, Koopmans M, Go U, Hamer<sup>DH</sup>, Petrosillo N, Castelli F, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(9): e238-44.
5. Wang R, Simoneau CR, Kulsuptrakul J, Bouhaddou M, Travisano KA, Hayashi JM, et al. Genetic screens identify host factors for SARS-CoV-2 and common cold coronaviruses. *Cell.* 2021;184:106-19.
6. Guthmiller JJ, Wilson PC. Remembering seasonal coronaviruses. Antibodies against seasonal coronaviruses react with SARS-CoV-2. *Science.* 2020;370 (6522):1272-3.
7. Adams O, Andrée M, Rabl D, Ostermann PN, Schaal H, Lehnert E, et al. Humoral response to SARS-CoV-2 and seasonal coronaviruses in COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2022; 94:1096-103.
8. Ruetalo N, Businger R, Althaus K, Fink S, Ruoff F, Pogoda M, et al. Antibody response against SARS-CoV-2 and seasonal coronaviruses in nonhospitalized COVID-19 patients. *mSphere.* 2021; 6 (1):e01145-20.
9. Kornatskyi VM, Ryzhkova NO, Gavrilenko TI, Dorokhina AM, Kornatsky YuVi, Pidgaina OA, Babii SM, Pasichnichenko OM. IgG, IgM and neutralizing antibodies to SARS-COV-2 in medical workers during the year (2020-2021) before the start of mass vaccination. *Fiziol Zh.* 2022; 68(3): 44-50.
10. Majdoubi A, Michalski C, O'Connell SE, Dada S, Narpala S, Gelinas J, et al. A majority of uninfected adults show preexisting antibody reactivity against SARS-CoV-2. *JCI Insight.* 2021; 6(8): e146316.
11. Ortega N, Ribes M, Vidal M, Rubio R, Aguilar R, Williams S, et al. Seven-month kinetics of SARS-CoV-2 antibodies and role of pre-existing antibodies to human coronaviruses. *Nat Commun.* 2021;12: 4740.
12. Wang G, Xiang Z, Wang W, Chen Z. Seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: Effects of preexisting immunity during the COVID-19 pandemic. *J Zhejiang Univ-Sc (Biomed Biotech).* 2022; 23(6):451-60.
13. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020;181:271-80.
14. Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, Xu J, Obernier K, White KM, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature.* 2020; 583 (7816):459-68.
15. Daniels B, Sitapati M, Zhang J, Zou J, Bui QM, Ren J, et al. Relation of statin use prior to admission to severity and recovery among COVID-19 inpatients. *Am J Card.* 2020; 136 (1):149-55.
16. Anděl M, Tsevegjav A, Roubalová K, Hrubá D, Dlouhý P, Kraml P. Infectious and inflammatory factors in the etiology and pathogenesis of atherosclerosis. *Vnitř Lek.* 2003 Dec;49(12):960-6.
17. Li B, Xia<sup>Y</sup>, Hu<sup>B</sup>. Infection and atherosclerosis: TLR-dependent pathways. *Cell Mol Life Sci.* 2020 Jul;77(14):2751-69.

*Матеріал надійшов  
до редакції 24.04.2023*