



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.2.013>



Евтеева Д.А.✉, Гайковая Л.Б.

Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Прогностическая значимость изменений уровня маркеров воспаления у пациентов с новой коронавирусной инфекцией

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Евтеева Д.А. – сбор материала, обработка, написание текста; Гайковая Л.Б. – дизайн исследования, концепция, редактирование.

Подана: 01.04.2023

Принята: 02.05.2023

Контакты: doc.evtееva@yandex.ru

Резюме

Введение. Для прогнозирования исходов новой коронавирусной инфекции важен поиск информативных воспалительных маркеров из большого числа рекомендованных.

Цель. Сравнить значимость маркеров воспаления при новой коронавирусной инфекции для прогноза исхода заболевания.

Материалы и методы. Сформированы две группы исследования: 1-я группа (26 человек) – с содержанием гомоцистеина (Нсу) в крови в пределах референтных значений, 2-я группа (24 человека) – с гипергомоцистеинемией (ННсу). В сыворотке крови пациентов определяли маркеры воспаления – С-реактивный белок, ферритин, гомоцистеин, интерлейкин-6, а также показатели одноуглеродного метаболизма – витамин В₁₂, фолиевая кислота.

Результаты. Для пациентов с гипергомоцистеинемией характерны более старший возраст, наличие хронических заболеваний ССС, почек и тромботические осложнения, а также низкая концентрация витамина В₁₂ и высокий уровень интерлейкина-6. Сравнение воспалительных маркеров проводилось с помощью бинарной логистической регрессии, построены ROC-кривые.

Заключение. Уровень гомоцистеина в крови у пациентов пожилого возраста с новой коронавирусной инфекцией является более чувствительным прогностическим маркером неблагоприятных исходов по сравнению с С-реактивным белком, ферритином и интерлейкином-6. Определение гомоцистеина в крови может быть использовано для оценки воспалительного процесса в динамике у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, гомоцистеин, маркеры воспаления, прогностические маркеры, показатели 1С-метаболизма

Darya A. Evteeva✉, Larisa B. Gaikovaya
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
Saint Petersburg, Russia

Prognostic Significance of Inflammatory Markers Level Changes in Patients with a New Coronavirus Infection

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Darya A. Evteeva – material collection, processing, text writing; Larisa B. Gaikovaya – study design, editing.

Submitted: 01.04.2023

Accepted: 02.05.2023

Contacts: doc.evteeva@yandex.ru

Abstract

Introduction. To predict outcomes of a new coronavirus infection is important searching of meaningful inflammatory markers among many recommended ones.

Purpose. To compare the significance of inflammatory markers in a new coronavirus infection for predicting the outcome of the disease.

Materials and methods. Two research groups were formed: Group 1 (26 subjects) with blood homocysteine (Hcy) within the reference values and group 2 (24 subjects) with hyperhomocysteinemia (HHcy). Inflammatory markers were determined in patients' blood serum: C-reactive protein, ferritin, homocysteine, interleukin-6, as well as 1C metabolism laboratory indicators such as vitamin B₁₂ and folic acid.

Results. Patients with hyperhomocysteinemia were characterised by older age, chronic cardiac and renal diseases and thrombotic complications, as well as low vitamin B₁₂ concentrations and high levels of interleukin-6. Inflammatory markers were compared using binary logistic regression, and ROC curves were constructed.

Conclusion. Blood homocysteine levels in elderly patients with a new coronavirus infection are more sensitive prognostic markers of adverse outcomes compared to C-reactive protein, ferritin and interleukin-6. Blood homocysteine determination can be applied to assess the inflammatory process over time in patients with a new coronavirus infection.

Keywords: novel coronavirus infection, homocysteine, inflammatory markers, prognostic markers, 1C-metabolism laboratory tests

■ ВВЕДЕНИЕ

Биомаркеры воспаления, имеющие гетерогенную природу, используются для выявления и оценки прогрессирования заболевания или результатов лечения [1]. В клинической практике представлено большое количество воспалительных маркеров, среди которых наиболее широко используемыми являются С-реактивный белок, ферритин, общее количество лейкоцитов, гомоцистеин и др. Со времени регистрации первого случая коронавирусной инфекции 2019 (COVID-19) в декабре 2019 г. в Китае были разработаны методические рекомендации по профилактике,



диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19), в которых рекомендованы лабораторные тесты для оценки воспалительного процесса [2]. Для пациентов с COVID-19 наиболее характерными являются лейкопения и лимфопения, а также повышение уровней активности аминотрансфераз, С-реактивного белка (СРБ), ферритина, лактатдегидрогеназы и D-димера [3]. Повышение содержания в крови маркеров воспаления, таких как общее количество лейкоцитов, СРБ, прокальцитонин, интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин-10 (ИЛ-10), у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, связано с тяжестью и прогнозом заболевания [4]. Уровень гомоцистеина также является прогностическим маркером у пациентов с COVID-19 по мнению некоторых авторов [5]. Известно, что гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, участвующая в процессах метилирования в организме, является провоспалительным фактором, индуцирует оксидативный стресс, вызывает эндотелиальную дисфункцию и нарушение эпигенетических механизмов экспрессии генов [6]. Гипергомоцистеинемия рассматривается как независимый фактор развития атеротромбоза и сердечно-сосудистых осложнений. В метаанализе, включающем 72 исследования, было продемонстрировано, что в общей популяции при увеличении гомоцистеина на 5 мкмоль/л риск ишемической болезни сердца увеличился на 32%, тромбоза глубоких вен – на 60%, инсульта – на 59% [7]. Основной причиной смерти среди пациентов с новой коронавирусной инфекцией является острый респираторный дистресс-синдром, другими распространенными причинами смерти являются: сепсис, полиорганная недостаточность, бактериальная или вирусная коинфекция, венозный тромбоз и острая сердечная недостаточность [8]. Прогностическая оценка исходов COVID-19 проводилась с использованием различных лабораторных маркеров воспаления, однако данных сравнительного анализа этих показателей недостаточно, что и определило цель этого исследования.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнить значимость маркеров воспаления при новой коронавирусной инфекции для прогноза исхода заболевания.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В одноцентровое когортное исследование были включены 50 пациентов (27 женщин и 23 мужчины) с внебольничной пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 и подтвержденной ПЦР-исследованием назофарингеального мазка, госпитализированных в инфекционное отделение ФГБОУ «СЗГМУ имени И.И. Мечникова» в 2021 году. Средний возраст пациентов составил $52,4 \pm 14,4$ года. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ «СЗГМУ имени И.И. Мечникова» в сентябре 2021 г. (протокол № 10 от 03.11.2021). Пациенты при поступлении были разделены на две группы в зависимости от уровня гомоцистеина в крови: 1-я группа (26 человек) – с содержанием гомоцистеина (Hcy) в крови в пределах референтных значений, 2-я группа (24 человека) – с гипергомоцистеинемией (HHcy). Были проанализированы анамнестические данные пациентов, включая пол, возраст, индекс массы тела, степень поражения легких по данным компьютерной томографии, сопутствующие заболевания и клинические исходы – выздоровление или внутрибольничная смерть. Лечение пациентов проводилось в соответствии

с актуальными на тот момент версиями временных методических рекомендаций Минздрава России по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Забор венозной крови у пациентов осуществлялся в соответствии со стандартными процедурами преаналитического этапа лабораторного исследования. У всех обследованных определяли маркеры воспаления – С-реактивный белок, ферритин, интерлейкин-6, а также продукты одноуглеродного метаболизма, такие как гомоцистеин, фолиевая кислота и витамин B₁₂. Измерение концентрации С-реактивного белка и ферритина в сыворотке крови было выполнено на анализаторе Au-480 (Beckman Coulter, США) иммунотурбидиметрическим методом. Определение концентрации гомоцистеина, фолиевой кислоты, витамина B₁₂ и интерлейкина-6 проводилось электрохемилюминесцентным методом на анализаторе Cobas e 411 (Roche, США).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программного пакета Jamovi 2.3. Числовые значения представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Me [Q1–Q3]). Для сравнения двух независимых переменных использовали тест Манна – Уитни. Данные, измеренные в номинативной шкале (признак – есть/нет), сравнивали в режиме таблиц сопряженности при помощи критерия хи-квадрат. Корреляции между показателями определяли по Спирмену. Сравнение воспалительных маркеров проводилось с помощью бинарной логистической регрессии, построены ROC-кривые. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ историй болезни пациентов с новой коронавирусной инфекцией показал, что у 54% пациентов в анамнезе были хронические заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС), а у 1/3 пациентов (33%) – ожирение. Среди осложнений основного заболевания в период госпитализации были сепсис (4,0%) и тромботические осложнения (12,0%) (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что в группе пациентов с гипергомоцистеинемией достоверно чаще встречались хронические заболевания СССР, почек и тромботические осложнения. При этом пациенты с гипергомоцистеинемией были достоверно старше пациентов с уровнем гомоцистеина в пределах референтных значений. Известно, что сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной заболеваемости и смертности, риск их развития повышается с возрастом и связан с кардиальными и сосудистыми изменениями [9].

У всех пациентов с COVID-19 при поступлении отмечалось возрастание показателей лабораторных тестов, отражающих воспалительные изменения в организме (С-реактивный белок, ферритин), при этом показатели одноуглеродного метаболизма находились в пределах референтных интервалов. При оценке этих же показателей в динамике через 10–14 дней выявлялся дефицит фолиевой кислоты, перед выпиской ее уровень составил 1,70 [0,844; 3,12] мкг/л, тогда как при поступлении был равен 4,10 [1,39; 5,87] мкг/л ($p < 0,001$). Также было установлено снижение концентрации витамина B₁₂ перед выпиской (387 [265; 522] нг/л) по сравнению со значениями при поступлении (608 [365; 847] нг/л), но данные показатели находились в пределах референтных интервалов ($p = 0,004$). Значимое снижение концентрации гомоцистеина с 14,0 [9,10; 18,3] мкмоль/л до 11,1 [6,62; 15,9] мкмоль/л определялось в динамике по сравнению со значениями при госпитализации ($p = 0,016$), а также отмечено статистически значимое снижение уровня С-реактивного белка (табл. 2).



Таблица 1

Сравнительная характеристика сопутствующих заболеваний и осложнений у пациентов с новой коронавирусной инфекцией

Table 1

Comparative characteristics of comorbidity and complications in patients with a new coronavirus infection

Показатель	Все пациенты (n=50)	Пациенты с уровнем Нсу в пределах референтных значений (n=26)	Пациенты с ННсу (n=24)	p
Возраст, годы	52,4±14,4	45,2±12,4	60,5±13,0	<0,001
Пол:				
– мужчины	27 (54%)	12 (24%)	11 (22%)	0,855
– женщины	23 (46%)	14 (28%)	13 (26%)	
Ожирение, %	16 (32%)	6 (12,0%)	10 (20%)	0,159
Сахарный диабет, %	4 (8%)	0	4 (8%)	0,099
ХОБЛ, БА, %	5 (10%)	5 (10%)	0	0,073
Хронические заболевания ССС, %	27 (54%)	8 (16%)	19 (38%)	<0,001
Хронические заболевания ЖКТ, %	13 (26,5%)	5 (10%)	8 (16%)	0,256
Хронические заболевания почек, %	11 (22%)	2 (4%)	9 (18%)	0,028
Тромботические осложнения, %	6 (12%)	0	6 (12%)	0,022
Сепсис, %	2 (4%)	0	2 (4%)	0,435

Таблица 2

Маркеры воспаления и показатели одноуглеродного метаболизма у пациентов с новой коронавирусной инфекцией при поступлении и через 10–14 дней

Table 2

Inflammation markers and 1C-metabolism indicators in patients with a new coronavirus infection at admission and within 10–14 days

Показатель	При поступлении	Перед выпиской	p
Фолиевая кислота, мкг/л	4,10 [1,39; 5,87]	1,70 [0,844; 3,12]	<0,001
Витамин В ₁₂ , нг/л	608 [365; 847]	387 [265; 522]	0,004
Гомоцистеин, мкмоль/л	14,0 [9,10; 18,3]	11,1 [6,62; 15,9]	0,016
С-реактивный белок, г/л	49,6 [26,9; 130]	6,64 [2,90; 15,2]	<0,001
Ферритин, мкг/л	634 [381; 1056]	500 [306; 661]	1,000

При сравнении лабораторных показателей в зависимости от концентрации гомоцистеина у пациентов с гипергомоцистеинемией концентрация витамина В₁₂ была ниже – 403 [254; 666] нг/л, чем у пациентов 1-й группы с уровнем гомоцистеина в пределах референтных значений – 785 [486; 870] нг/л (p=0,012), а уровень интерлейкина-6 был статистически значимо выше (175 [48,8; 535] нг/л и 27,7 [6,03; 74,7] нг/л, p=0,007) соответственно (табл. 3).

Корреляционный анализ показал, что уровень гомоцистеина прямо связан с уровнем интерлейкина-6 – положительная корреляционная связь (r=0,575, p=0,025), по классификации Чеддока средней силы, и обратно – с уровнем витамина В₁₂ – отрицательная корреляционная связь (r=–0,440, p=0,002), по классификации

Таблица 3**Лабораторные показатели у пациентов в зависимости от уровня гомоцистеина при поступлении в стационар****Table 3****Laboratory findings in patients depending on the homocysteine level at hospital admission**

Показатель	Пациенты с уровнем Нсу в пределах референтных значений (n=26)	Пациенты с ННсу (n=24)	p
Фолиевая кислота, мкг/л	4,03 [1,42; 5,57]	4,05 [1,01; 6,08]	0,699
Витамин В ₁₂ , нг/л	785 [486; 870]	403 [254; 666]	0,012
С-реактивный белок, мг/л	34,3 [19,9; 126]	78,9 [33,6; 167]	0,114
Ферритин, мкг/л	645 [381; 1177]	586 [327; 975]	0,333
Интерлейкин-6, нг/л	9,13 [1,50; 37,8]	152 [101; 668]	0,049

Чеддока средней силы, а содержание витамина В₁₂ прямо коррелировало с уровнем С-реактивного белка ($r=0,366$, $p=0,015$), по классификации Чеддока средней силы.

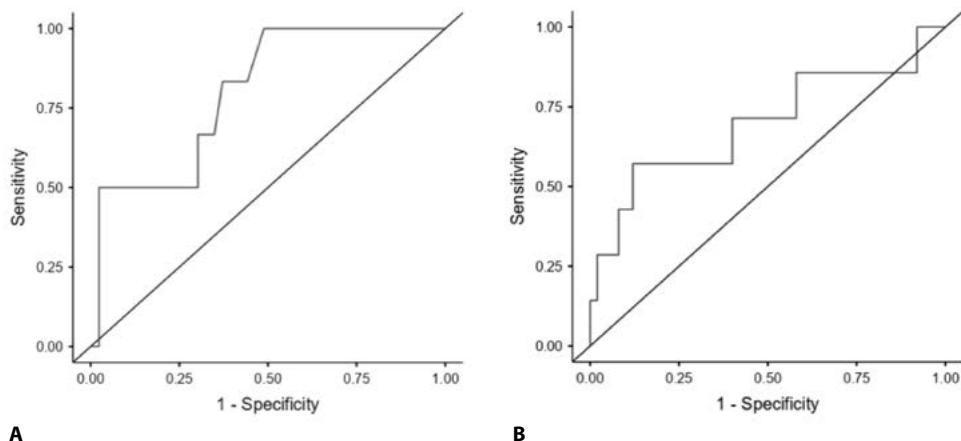
При анализе концентрации маркеров воспаления и развития неблагоприятных исходов у пациентов с коронавирусной инфекцией с использованием бинарной логистической регрессии было выявлено, что содержание в крови гомоцистеина – это наиболее значимый показатель для прогнозирования неблагоприятных исходов (табл. 4).

Для статистически значимых показателей были построены ROC-кривые, представленные на рисунке, из них наиболее эффективной оказалась построенная для гомоцистеина (AUC=0,80, индекс Юдена 0,512, чувствительность 100%, специфичность 51,16%) по сравнению с С-реактивным белком (AUC=0,697, индекс Юдена 0,451, чувствительность 57,14%, специфичность 88%).

В результате анализа полученных данных было установлено, что у пациентов с новой коронавирусной инфекцией отмечалось наличие дефицита фолиевой кислоты, снижение уровня витамина В₁₂, а также снижение концентрации гомоцистеина при выписке из стационара. Причинами развития гипергомоцистеинемии при поступлении в стационар являлись возраст обследованных пациентов старше 60 лет

Таблица 4**Логистическая бинарная регрессия маркеров воспаления****Table 4****Logistic binary regression of inflammatory markers**

	Выжившие	Умершие	Отношение шансов	95%-ный доверительный интервал	p
Гомоцистеин, мкмоль/л	13,9 [8,90; 17,3]	23,6 [15,8; 31,4]	1,13	0,02–0,23	0,020
С-реактивный белок, мг/л	46,6 [21,0; 117]	168 [53,6; 269]	1,008	0,0012–0,015	0,022
Интерлейкин-6, нг/л	24,8 [3,54; 101]	77,5 [39,5; 115]	0,999	0,9922–1,006	0,797
Ферритин, мкг/л	590 [356; 987]	1451 [820; 1818]	1,0017	1,00032–1003	0,016



ROC-кривые гомоцистеина (А) и С-реактивного белка (В)
ROC curves of homocysteine (A) and C-reactive protein (B)

и наличие у них сопутствующий патологии сердечно-сосудистой системы и хронических заболеваний почек. В процессе лечения у пациентов с гипергомоцистеинемией наблюдалось повышение уровня интерлейкина-6, что, вероятно, связано с тяжестью инфекционного процесса и возможностью оценки уровня гомоцистеина как более чувствительного и значимого маркера воспаления, а также предиктора неблагоприятных исходов у пациентов пожилого возраста.

Увеличение уровня гомоцистеина происходит при повышении возраста, что связывают с недостаточным питанием пожилых людей и дефицитом витамина B_{12} [10]. Наличие в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы и почек, возможно, обусловлено гипергомоцистеинемией, что отмечали в своем исследовании L. Koklesova et al. (2021) [11]. Также возможной причиной гипергомоцистеинемии является более длительный воспалительный процесс, так как пациенты с COVID-19 и ННсу (гипергомоцистеинемией) уже при поступлении в стационар имели более высокий уровень интерлейкина-6. В экспериментальном исследовании Nehal M. Elsherbiny et al. (2020) было показано, что гомоцистеин индуцировал воспаление в сетчатке, головном мозге мышей и культивированных моноцитах человека посредством увеличения фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина-6 и интерлейкина- 1β [12]. По данным зарубежных исследователей, интерлейкин-6 у пациентов с новой коронавирусной инфекцией является наиболее значимым прогностическим маркером выживаемости по сравнению с уровнем содержания С-реактивного белка [13]. В другом исследовании динамика уровней интерлейкина-6 была связана с динамикой патологических изменений в легких, характеризующихся сходствами пиковых значений ИЛ-6 и изменений на компьютерной томограмме легких [14], что, возможно, связано с прогрессированием заболевания и определением интерлейкина-6 в более поздние сроки. G. Ponti et al. (2021) в своем исследовании, включавшем 313 пациентов, показали, что D-димер, протромбиновое время, тропонин, количество лимфоцитов и соотношение количества нейтрофилов и лимфоцитов были значительно выше

у умерших пациентов, а гомоцистеин был ассоциирован со смертностью у госпитализированных пациентов с COVID-19 [5]. В исследовании Z. Yang et al. (2020) было показано, что гомоцистеин является прогностическим показателем для оценки прогрессирования изменений легких на компьютерной томографии [15].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что уровень гомоцистеина в крови у пациентов пожилого возраста с новой коронавирусной инфекцией является более чувствительным прогностическим маркером неблагоприятных исходов по сравнению с С-реактивным белком, ферритином и интерлейкином-6.

Определение гомоцистеина в крови может быть использовано для оценки воспалительного процесса в динамике заболевания у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ansar W., Ghosh S. Inflammation and Inflammatory Diseases, Markers, and Mediators: Role of CRP in Some Inflammatory Diseases. *Biol C React Protein Heal Dis*. 2016;67–107. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-81-322-2680-2_4
2. Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Version 17 (09.12.2022)" (approved by the Ministry of Health of Russia) (together with "Recommendations for the description of the data of the RG and CT OGC", "Instructions for conducting...") ConsultantPlus. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896/?ysclid=lfwxtkvkw681068958. (in Russian)
3. COVID-19 Treatment Guidelines [Internet]. 2022. Available at: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
4. Ji P., Zhu J., Zhong Z., Li H., Pang J., Li B. Association of elevated inflammatory markers and severe COVID-19: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2020;99(47):e23315. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33115115/>
5. Ponti G., Roli L., Oliva G., Manfredini M., Trenti T., Kaleci S. Homocysteine (Hcy) assessment to predict outcomes of hospitalized Covid-19 patients: a multicenter study on 313 Covid-19 patients. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(9):e354–7.
6. Perla-Kaján J., Twardowski T., Jakubowski H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. *Amino Acids*. 2007;32(4):561–72.
7. Wald D.S., Law M., Morris J.K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ Br Med J* [Internet]. 2002;325(7374):1202. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12020000/>
8. Elez Kurtaj S., Greuel S., Ihlow J., Michaelis E.G., Bischoff P., Kunze C.A. Causes of death and comorbidities in hospitalized patients with COVID-19. *Sci Reports* 2021 11 [Internet]. 2021;11(1):1–9. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-82862-5>
9. Visseren F.L.J., Mac H.F., Smulders Y.M., Carballo D., Koskinas K.C., Bäck M. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *Eur Heart J* [Internet]. 2021;42(34):3227–337. Available at: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/42/34/3227/6358713>
10. Refsum H., Smith A.D., Ueland P.M., Nexø E., Clarke R., McPartlin J. Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determinations: An Expert Opinion. *Clin Chem*. 2004;50(1):3–32.
11. Koklesova L., Mazurakova A., Samec M., Biringer K., Samuel S.M., Büsselberg D. Homocysteine metabolism as the target for predictive medical approach, disease prevention, prognosis, and treatments tailored to the person. *EPMA J*. 2021;12(4):477–505.
12. Elsherbiny N.M., Sharma I., Kira D., Alhusban S., Samra Y.A., Jadeja R. Homocysteine Induces Inflammation in Retina and Brain. *Biomolecules*. 2020;10(3):393.
13. Santa Cruz A., Mendes-Frias A., Oliveira A.I., Dias L., Matos A.R., Carvalho A. Interleukin-6 Is a Biomarker for the Development of Fatal Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Pneumonia. *Front Immunol*. 2021;12.
14. Liu Z., Li J., Chen D., Gao R., Zeng W., Chen S. Dynamic Interleukin-6 Level Changes as a Prognostic Indicator in Patients With COVID-19. *Front Pharmacol*. 2020;11.
15. Yang Z., Shi J., He Z., Lu Y., Xu Q., Ye C. Predictors for imaging progression on chest CT from coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. *Aging (Albany NY)* [Internet]. 2020;12(7):6037. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33115104/>