

ПРЕДИКТОРНАЯ СПОСОБНОСТЬ НЕОПТЕРИНА ПРИ COVID-19

Нагуманов С.В., Абдрашитова А.Т.

ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, e-mail: vinn@inbox.ru

Цель исследования – изучение предикторной способности определения неоптерина в сыворотке крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Проанализированы показатели концентрации неоптерина в сыворотке крови у 92 пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением новой коронавирусной инфекции, поступивших в отделение реанимации и интенсивной терапии инфекционного госпиталя, развернутого на базе Александрo-Марининской областной клинической больницы Министерства здравоохранения Астраханской области (ГБУЗ АО «АМОКБ», г. Астрахань) в период март-май 2021 г. Концентрация неоптерина в сыворотке крови определялась на первые сутки госпитализации методом иммуноферментного анализа. В соответствии с исходом заболевания пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (летальный исход, n=30), 2-я группа (выздоровление, n=62). Было выявлено, что у пациентов с неблагоприятным исходом концентрация неоптерина была достоверно выше по сравнению с пациентами с благоприятным исходом. Повышенная концентрация неоптерина вместе с продолжительностью догоспитального периода и наличием в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний, патологией дыхательной и эндокринной систем могут определять до 71% усредненного общеклинического профиля пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Выявленные корреляционные связи между концентрацией неоптерина и продолжительностью госпитального периода позволяют предполагать, что у пациентов с высокой концентрацией неоптерина может наблюдаться более длительное течение заболевания с риском летального исхода. По результатам построенной ROC-модели можно предположить, что вероятность благоприятного прогноза течения заболевания значительно снижается при превышении концентрации неоптерина, равной 27,5 нмоль/л. Попытка изучения концентрации уровня неоптерина в сыворотке крови для верификации пациентов с предполагаемым длительным течением заболевания с риском неблагоприятного исхода при новой коронавирусной инфекции показала, что данный способ является достаточно чувствительным инструментом и может применяться для решения задач подобного рода.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, биомаркер, неоптерин.

PREDICTIVE ABILITY OF NEOPTERIN IN COVID-19

Nagumanov S.V., Abdrashitova A.T.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: vinn@inbox.ru

To study the predictive ability of determining neopterin in blood serum in patients with a new coronavirus infection. The indicators of the concentration of neopterin in the blood serum of 92 patients with moderate and severe course of new coronavirus infection admitted to the intensive care unit of the infectious diseases hospital for patients with COVID-19 on the basis of Alexandro-Mariinskaya Regional Clinical Hospital (GBUZ AO "АМОКБ", Astrakhan) in the period February-April 2021 were analyzed. The concentration of neopterin in the blood serum was determined on the first day of hospitalization by ELISA. According to the outcome of the disease, the patients were divided into 2 groups: group 1 (fatal outcome — 30 people), group 2 (recovery — 62 people). It was found that in patients with an unfavorable outcome, the concentration of neopterin was significantly higher than in patients with a favorable outcome. The increased concentration of neopterin, together with the duration of the prehospital period and the presence in the anamnesis of cardiovascular diseases, respiratory and endocrine system pathologies can determine up to 71% of the average general clinical profile of patients with a new coronavirus infection. The revealed correlations between the concentration of neopterin and the duration of the hospital period suggest that patients with a high concentration of neopterin may have a longer course of the disease with a risk of death. According to the results of the constructed ROC model, it can be assumed that the probability of a favorable prognosis of the course of the disease is significantly reduced when the concentration of neopterin is exceeded equal to 27.5 nmol/L. Our attempt to study the use of determining the concentration of the level of neopterin in the blood serum to verify patients with a suspected long-term course of the disease with the risk of an unfavorable outcome in a new coronavirus infection has shown that this method is a fairly sensitive tool and can be used to solve problems of this kind.

Keywords: new coronavirus infection, biomarker, neopterin.

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызываемой SARS-CoV-2, явилась одним из мощнейших вызовов для национальных систем здравоохранения в современном мире. На момент написания данной статьи число зарегистрированных случаев инфицирования коронавирусом составило около 700 млн человек, из которых умерло почти 7 миллионов человек. Было установлено, что пожилой возраст, избыточная масса тела, сахарный диабет, болезни сердечно-сосудистой системы и хроническая обструктивная болезнь легких могут выступать маркерами потенциально неблагоприятного течения данного заболевания. За время пандемии, помимо выявления клинически значимых маркеров неблагоприятного течения, было проведено большое количество исследований, направленных на поиск лабораторных биомаркеров, способных выступать в роли ранних предикторов неблагоприятного и тяжелого течения COVID-19. В качестве данных маркеров, например, изучались: С-реактивный белок, D-димер, фибриноген крови, ЛДГ, прокальцитонин, интерлейкины, показатели общего анализа крови (лимфоциты, нейтрофилы, тромбоциты), печеночные ферменты (АЛТ, АСТ) и т.д. [1].

Нужно отметить, что еще задолго до появления пандемии COVID-19 неоптерин являлся одним из наиболее изученных маркеров активации иммунной системы при различных заболеваниях [2]. Выявленные повышенные значения неоптерина на самых ранних стадиях различных вирусных инфекций позволили ему стать одним из критерием дифференциальной диагностики между вирусными и бактериальными инфекциями [3]. Более того, высокие значения неоптерина стали выступать прогностическим маркером более тяжелого течения и негативного прогноза при вирусных заболеваниях [4]. Неоптерин - это стабильный метаболит, образующийся в процессе метаболизма гуанозинтрифосфата в различные формы биооптерина под воздействием интерферона- γ . Основным местом выработки неоптерина выступают активированные интерфероном- γ макрофаги [2]. Согласно мнению M. Merad и J. Martin, активация макрофагов и моноцитов может вносить значительный вклад в формирование гипервоспалительного ответа со стороны иммунной системы, часто наблюдаемого при новой коронавирусной инфекции [5]. Таким образом, изучение такого лабораторного маркера, как неоптерин, может приобрести важное значение в оценке активации иммунной системы с точки зрения ранней диагностики прогрессирования заболевания и развития возможных неблагоприятных исходов при новой коронавирусной инфекции.

Цель исследования - исследование предикторной способности определения неоптерина в сыворотке крови у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Материалы и методы исследования

В одноцентровое, проспективное исследование были последовательно включены 92 взрослых пациента, госпитализированных с диагнозом «новая коронавирусная инфекция» в

отделение реанимации и интенсивной терапии инфекционного госпиталя, развернутого на базе Александрo-Мариинской областной клинической больницы Министерства здравоохранения Астраханской области (ГБУЗ АО «АМОКБ», г. Астрахань) в период февраль-апрель 2021 г. Верификация новой коронавирусной инфекции проводилась путем получения положительного результата исследования мазка на РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР. Терапия пациентов проводилась согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 10 (08.02.2021)». Критериями включения в исследование являлись: подписанное информированное согласие, возраст от 18 лет и старше, подтвержденная методом ПЦР коронавирусная инфекция, наличие очаговых изменений в легких по данным компьютерной томографии. Критерии невключения: возраст младше 18 лет, отсутствие подписанного информированного согласия, отрицательный результат ПЦР, наличие бактериальной инфекции, тяжелое состояние пациента на момент поступления. Взятие крови для определения концентрации неоптерина производилось на 1-е сутки госпитализации. Концентрацию неоптерина определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением тестовых систем «Neopterin ELISA» для количественного определения неоптерина *in vitro* в сыворотке, плазме и моче человека (IBL International GmbH, Германия). В качестве референсного значения при проведении сравнительной оценки концентрации неоптерина в сыворотке крови были взяты значения из инструкции к тест-системе, где ожидаемые значения для относительно здоровых субъектов в норме не превышают 10 нмоль/л, при среднем значении, равном 5,34 нмоль/л для людей от 18 до 75 лет. В зависимости от исхода заболевания все пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (летальный исход, n=30), 2-я группа (выздоровление, n=62).

Статистическая обработка данных с построением графиков и таблиц проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 22 (Chicago, USA) При проведении статистической обработки полученных данных проверка нормальности распределения количественных переменных проводилась с применением частотных гистограмм, критериев Шапиро - Уилка и Колмогорова - Смирнова. При нормальном распределении переменной её значение представлено в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения, при распределении, отличном от нормального, переменная представлена в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q25-Q75). Категориальные признаки представлены с указанием абсолютных значений. Сравнение групп по количественному признаку проводилось с помощью критерия Манна – Уитни. Для определения минимального числа факторов, влияющих на общеклинический профиль пациентов, был проведен факторный анализ (метод главных компонент). С целью изучения количественной оценки силы и направления

взаимосвязи между изучаемыми признаками был проведен корреляционный анализ в виде расчета коэффициента корреляции Пирсона с последующим построением графиков рассеивания. Для определения прогностического потенциала неоптерина был использован метод бинарной логистической регрессии с построением ROC-кривой и последующим определением порога отсечения. Для выявления ассоциативной связи значений неоптерина с неблагоприятным прогнозом использовался метод Каплана - Мейера с построением кривых выживаемости. Расхождение кривых выживаемости оценивалось с помощью лог-ранк-теста (логарифмического рангового теста). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В 1-й группе средний возраст пациентов составил $64,26 \pm 12,71$ года (от 28 до 90 лет) (по 15 мужчин и женщин). Во 2-й группе средний возраст пациентов составил $54,5 \pm 13,38$ года (от 22 до 75 лет) (23 мужчины и 39 женщин). Средняя продолжительность пребывания в стационаре у пациентов 1-й группы составила $16,8 \pm 10,2$ суток (от 3 до 41 суток), у пациентов 2 группы - $22,8 \pm 9,7$ (от 7 до 56 суток). Концентрация неоптерина в сыворотке крови у пациентов 1-й группы находилась в диапазоне от 28 до 96 нмоль/л, медиана показателя - 63 нмоль/л (53,5-83 нмоль/л). Концентрация неоптерина в сыворотке крови у пациентов 2-й группы находилась в диапазоне от 8 до 88 нмоль/л, медиана показателя - 45 нмоль/л (25,7–63,7 нмоль/л) и была ниже по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$). С целью определения влияния некоторых переменных, таких как концентрация неоптерина при поступлении, продолжительность догоспитального периода, масса тела, сопутствующая патология сердечно-сосудистой системы, дыхания, почек, болезни эндокринной и нервной системы, онкопатология на общеклинический профиль пациентов обеих групп, - был проведен факторный анализ (метод главных компонент) (табл.).

Повернутая матрица компонент

	Компонента				
	1	2	3	4	5
Неоптерин	0,260	-0,149	-0,033	0,853	0,076
Догоспитальный период	0,144	0,843	-0,025	-0,160	-0,054
Масса тела	0,689	-0,133	0,155	0,003	0,199
Болезни почек	-0,172	0,101	0,665	0,507	0,006
Болезни ССС	0,828	0,053	-0,059	0,193	-0,163
Болезни органов дыхания	-0,116	0,169	0,034	0,222	0,813

Болезни эндокринной системы	0,183	-0,117	0,876	-0,148	-0,006
Болезни нервной системы	0,250	-0,708	0,037	-0,063	-0,117
Онкологические заболевания	-0,341	0,180	0,069	0,340	-0,595

Метод выделения факторов: метод главных компонент.

Метод вращения: варимакс с нормализацией Кайзера.

Вращение сошлось за 9 итераций.

По результатам факторного анализа было выявлено, что наличие сердечно-сосудистых заболеваний, патологии дыхательной и эндокринной систем, наряду с продолжительностью догоспитального периода и повышенной концентрацией неоптерина, могут определять до 71% усредненного общеклинического профиля у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, что может оказывать определенное влияние на течение и исход заболевания.

Для выявления возможных корреляционных связей между концентрацией неоптерина в сыворотке крови и возрастом пациентов, продолжительностью догоспитального периода и продолжительностью последующего пребывания в стационаре был проведен корреляционный анализ в виде расчета коэффициента корреляции Пирсона с последующим построением графиков рассеивания.

По результатам корреляционного анализа не было выявлено значимой корреляционной связи между концентрацией неоптерина и возрастом пациента в обеих группах (в группе с летальным исходом $r=0,081$ $p=0,671$, в группе с выздоровлением $r=0,321$ $p=0,011$) (рис. 1).

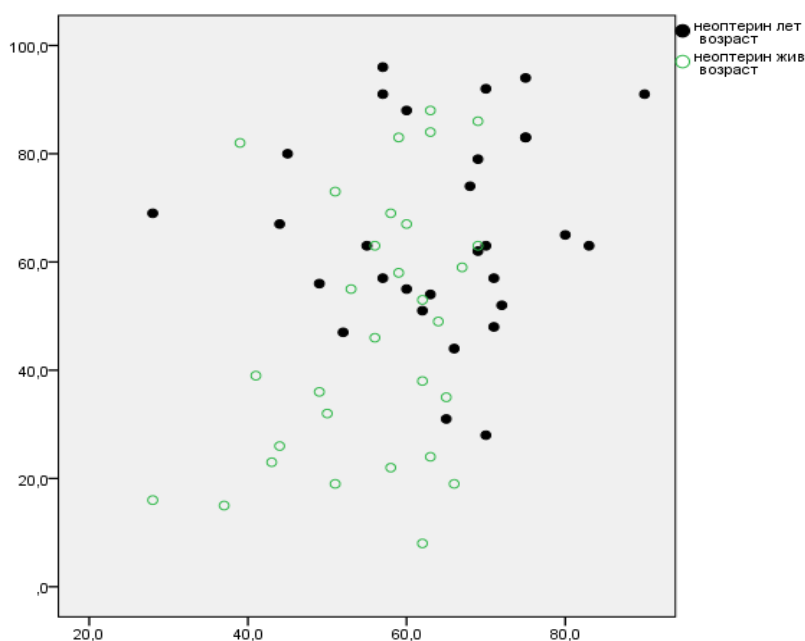


Рис. 1. График рассеивания между концентрацией неоптерина и возрастом пациента

При изучении взаимосвязи между концентрацией неоптерина и продолжительностью догоспитального периода также не было обнаружено значимых корреляционных связей в обеих группах (в группе с летальным исходом $r=-0,154$ $p=0,425$, в группе с выздоровлением $r=-0,086$ $p=0,511$) (рис. 2).

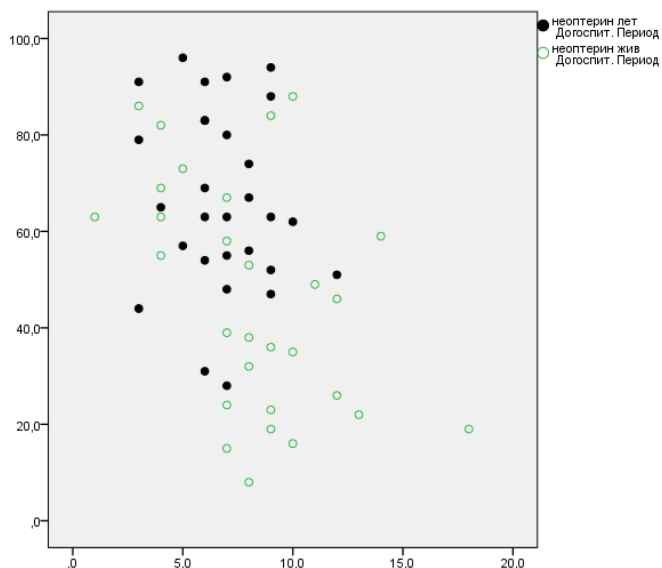


Рис. 2. График рассеивания между концентрацией неоптерина и продолжительностью догоспитального периода

При изучении взаимосвязи между концентрацией неоптерина и продолжительностью госпитального периода были выявлены статистически значимые разнонаправленные корреляционные связи в обеих группах. Так, в группе с летальным исходом наблюдается сильная отрицательная корреляционная связь ($r=-0,849$ $p=0,01$), а в группе с выздоровлением - сильная положительная корреляционная связь ($r=0,760$ $p=0,01$) (рис. 3).

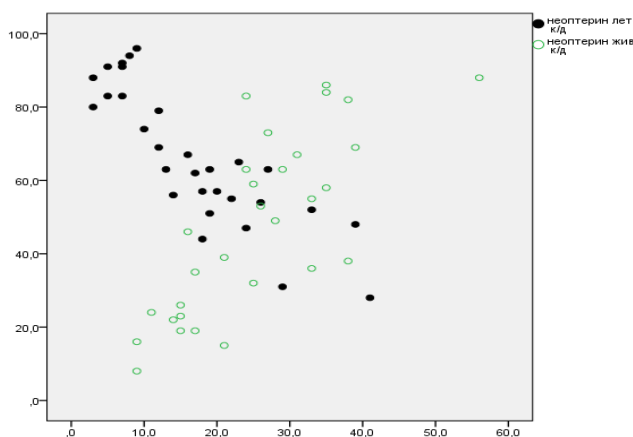


Рис. 3. График рассеивания между концентрацией неоптерина и продолжительностью

госпитального периода в обеих группах

Таким образом, на основании выявленных корреляционных связей между концентрацией неоптерина в сыворотке крови и продолжительностью пребывания пациентов в стационаре, можно предположить, что определение концентрации неоптерина может помочь в стратификации пациентов с более высоким риском неблагоприятного исхода и более продолжительным течением заболевания.

Для более углубленного изучения прогностического потенциала неоптерина был использован метод бинарной логистической регрессии с построением ROC-кривой. Согласно полученным результатам, вероятность благоприятного прогноза значительно снижается у лиц с высоким уровнем неоптерина. Данный тест обладает 72,1% специфичностью и 100% чувствительностью при пороговом значении неоптерина, установленном на уровне 27,5 нмоль/л (рис. 4).

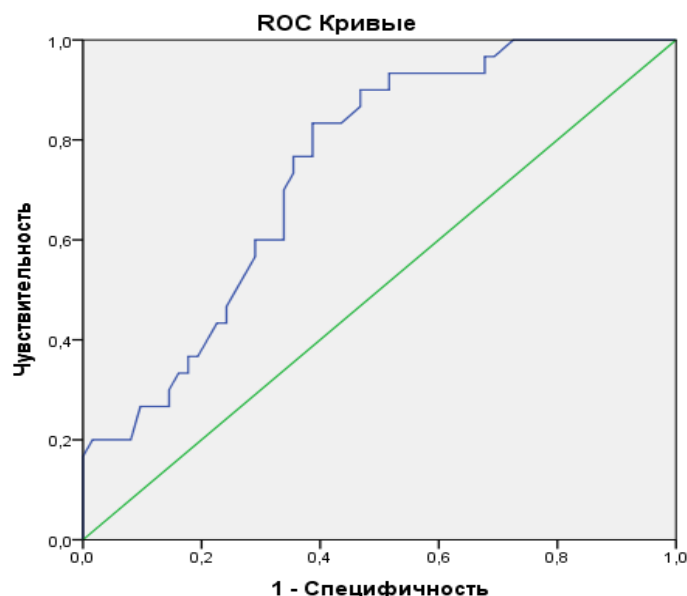


Рис. 4. Кривая рабочих характеристик приемника (ROC), отображающая чувствительность и специфичность модели прогнозирования неблагоприятного исхода на основе уровня неоптерина (AUC = 0,742; специфичность = 72,1%; чувствительность = 100%; порог = 27,5 нмоль/л)

Основываясь на 27,5 нмоль/л в качестве порогового значения, для оценки ассоциативной связи значений неоптерина с неблагоприятным прогнозом построили кривые выживаемости Каплана - Мейера для пациентов с низким (менее 27,5 нмоль/л) и высоким (более 27,5 нмоль/л) уровнями неоптерина. Расхождение кривых выживаемости Каплана - Мейера

оценивали с помощью лог-ранк-теста (логарифмического рангового теста). Несмотря на то что кривые выживаемости на графике не пересекаются, по результатам лог-ранк-теста (Log-rank =3,44, p=0,064) не было выявлено статистически значимого расхождения кривых выживаемости для пациентов с низким и высоким уровнями неоптерина, что можно объяснить малым объемом наблюдения (рис. 5).

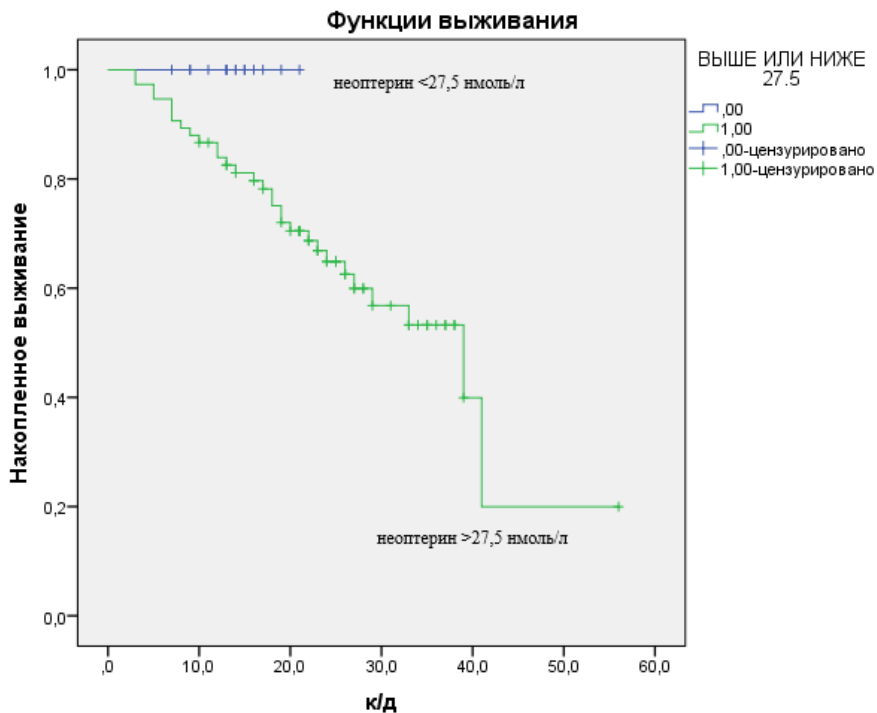


Рис. 5. Кривые Каплана - Мейера для групп пациентов с низким (менее 27,5 нмоль/л) и высоким (более 27,5 нмоль/л) уровнями неоптерина

В данном исследовании была предпринята попытка оценить прогностическую способность определения концентрации неоптерина в сыворотке крови для прогнозирования возможного неблагоприятного течения заболевания у пациентов с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией. Нужно отметить, что за время пандемии COVID-19 у большинства заболевших данная инфекция протекала в легкой и среднетяжелой форме, однако у части пациентов заболевание могло приобретать жизнеугрожающее течение из-за развития у них избыточного воспалительного ответа со стороны иммунной системы, получившего название «цитокиновый шторм», ввиду неконтролируемого выброса провоспалительных цитокинов, что может приводить к нарушению функции отдельных органов и систем, вплоть до развития ряда критических состояний для организма [6]. Одним из патогенетических вариантов «цитокинового шторма» может выступать синдром активации макрофагов [5]. Согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика,

диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 18 (26.10.2023)» к прогностическим лабораторным маркерам прогрессирующего синдрома активации макрофагов относятся: двух-, трехростковая цитопения, нарастание уровня ферритина, СРБ, АЛТ, АСТ, ЛДГ, гипонатриемия, гипофибриногенемия, снижение уровня антитромбина III, пролонгирование протромбинового времени и активированного частичного тромбопластинового времени. Неоптерин, являясь стабильным метаболитом, чья выработка тесно связана с активацией макрофагов и моноцитов под воздействием интерферона- γ , также потенциально может являться биомаркером активации иммунной системы при новой коронавирусной инфекции у человека [7]. Ранее неоптерин уже проявлял свои прогностические способности при различных инфекциях, в частности при изучении неоптерина у пациентов с тяжелым острым респираторным синдромом - ТОРС, также известным как «атипичная пневмония» (в англ. литературе - Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS); было выявлено, что высокие значения неоптерина в сыворотке крови проявляются уже на 1-й день после появления симптомов заболевания и коррелируют с продолжительностью и выраженностью лихорадки, что в свою очередь предопределяет длительность госпитализации и развитие осложнений [8].

Исследование было направлено на установление прогностической способности неоптерина прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у пациентов с подтвержденным COVID-19. Было обнаружено, что у пациентов с неблагоприятным исходом концентрация неоптерина была достоверно выше по сравнению с пациентами с благоприятным исходом. По результатам факторного анализа можно предположить, что наличие в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний, патологии дыхательной и эндокринной систем наряду с продолжительностью догоспитального периода и повышенной концентрацией неоптерина могут определять до 71% усредненного общеклинического профиля пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Выявленные корреляционные связи между концентрацией неоптерина и продолжительностью госпитального периода позволяют прогнозировать, что у пациентов с высокой концентрацией неоптерина может наблюдаться более длительное течение заболевания с риском летального исхода. По результатам построенной ROC-модели можно предположить, что риск развития неблагоприятного течения заболевания маловероятен при концентрации неоптерина $< 27,5$ нмоль/л.

Выводы

Новая коронавирусная инфекция может проявляться различными вариантами течения заболевания, начиная от бессимптомных и малозаметных форм вплоть до развития крайне тяжелых, жизнеугрожающих состояний. Своевременное выявление среди заболевших COVID-19 лиц с повышенным риском развития неблагоприятного течения заболевания

позволит своевременно оказать им необходимый объем медицинской помощи. В проведенном исследовании мы пришли к выводу, что определение неоптерина у заболевших COVID-19 обладает определенной прогностической ценностью и может являться чувствительным инструментом для решения задач такого рода.

Список литературы

1. Щербак С.Г., Камилова Т.А., Голота А.С., Вологжанин Д.А. Факторы риска тяжелого течения и летального исхода COVID-19// Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2022. Т 4. № 1. С.14–36. DOI: 10.36425/rehab104997.
2. Wachter H., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Weiss G., Werner E.R., Werner-Felmayer G. Neopterin: biochemistry-methods-clinical application. Berlin. De Gruyter. 2011. P. 307.
3. Pizzini A., Lunger F., Sahanic A., Nemati N., Fuchs D., Weiss G., Kurz K., Bellmann-Weiler R.. Diagnostic and prognostic value of inflammatory parameters including neopterin in the setting of pneumonia, COPD, and acute exacerbations // COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2017. Vol. 14. Is. 3. P. 298-303. DOI: 10.1080/15412555.2016.1266317.
4. Geisler S., Lytton S. D., Toan N. L., Nghia T. H., Nam N.M., Hung H. V., Son N.T., Anh D. T., Tuyen H. T., Tien T. V., Quyet D., Tong H. V., Hoan N. X., Song L. H., Pallerla S. R., Gostner J. M., Fuchs D., Velavan T. P.. Neopterin levels and Kyn/Trp ratios were significantly increased in dengue virus patients and subsequently decreased after recovery // International Journal of Infectious Diseases. 2020. Vol. 91. P. 162-168. DOI: 10.1016/j.ijid.2019.12.005.
5. Merad M, Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages // Nature reviews immunology. 2020. Vol. 20. Is. 6. P. 355-362. DOI: 10.1038/s41577-020-0331-4.
6. Кантемирова Б.И., Василькова В.В. Полиморфизм генов у больных новой коронавирусной инфекцией COVID-19 // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2022. Т. 11. № 3. С. 130–137. DOI: 10.33029/2305-3496-2022-11-3-130-137.
7. Chauvin M., Larsen M., Quirant B., Quentric P., Dorgham K., Royer L., Vallet H.I., Guihot A., Combadière B., Combadière C., Barallat J., Mayaux J., Luyt C.-E., Mathian A., Amoura Z., Boddaert J., Armestar F., Gorochov G., Martinez-Caceres E., Sauce D.. Elevated neopterin levels predict fatal outcome in SARS-CoV-2-infected patients // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021. Vol. 11. P. 764. DOI: 10.3389/fcimb.2021.709893.
8. Zheng B., Cao K.-Y., Chan C.P.Y., Choi J.W.Y., Leung W., Leung M., Duan Z.-H., Gao Y., Wang M., Di B., Hollidt J.M., Bergmann A., Lehmann M., Renneberg I., Tam J.S.L., Chan P.K.S., Cautherley G.W.H., Fuchs D., Renneberg R.. Serum neopterin for early assessment of severity of

severe acute respiratory syndrome // *Clinical Immunology*. 2005. Vol. 116. Is.1. P. 18-26. DOI:
10.1016/j.clim.2005.03.009.