



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.4.008>



Галиновская Н.В.¹, Никифорова О.Л.¹✉, Воропаев Е.В.¹, Козлов А.Е.², Осипкина О.В.¹, Барбарович А.А.¹

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Гомельская областная лаборатория аналитического контроля Республиканского центра аналитического контроля в области охраны окружающей среды, Гомель, Беларусь

Значимость оценки параметров системного воспаления и эндотелиальной дисфункции у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Галиновская Н.В. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация результатов, редактирование текста; Никифорова О.Л. – сбор материала, статистическая обработка данных, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Воропаев Е.В. – концепция и дизайн исследования, редактирование текста; Козлов А.Е. – лабораторные исследования, анализ и интерпретация результатов; Осипкина О.В. – лабораторные исследования, анализ и интерпретация результатов; Барбарович А.А. – сбор материала, статистическая обработка данных, написание текста.

Финансирование: работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований 4 «Трансляционная медицина» подпрограммы 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки»: «3.38 Разработать алгоритм прогнозирования пост-COVID-19 ассоциированной патологии на основании изучения клинко-лабораторных и функциональных показателей 2022–2024 гг.».

Подана: 15.04.2025

Принята: 12.09.2025

Контакты: nikiforova.o.l@yandex.ru

Резюме

Введение. Патогенез симптомов состояния после инфекции COVID-19, характеризующегося снижением качества жизни и ростом нетрудоспособности, остается недостаточно понятным в связи с отсутствием объективных параметров его оценки. Учитывая роль эндотелиальной дисфункции (ЭД) в формировании сосудистых заболеваний, предполагается ее участие в патогенезе состояния после перенесенной инфекции COVID-19.

Цель. Оценить значимость определения уровня воспалительных маркеров, концентрации нитрат- и нитрит-ионов (NO_x) и параметров антиоксидантного статуса плазмы венозной крови у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19.

Материалы и методы. За период 2023–2024 гг. обследовано 137 пациентов (муж. – 42, жен. – 95, средний возраст – 52 г. [46; 58]), перенесших инфекцию COVID-19: 98 составили контингент лиц с длительным сохранением жалоб, 39 – лица, не предъявлявшие жалоб. После заполнения чек-листа всем пациентам определены показатели концентрации NO_x , системного воспаления: интерлейкинов (IL) IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, С-реактивного белка (CRP), фактора некроза опухоли α (TNF- α), трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), прокальцитонина (PCT), общей антиоксидантной емкости плазмы (Т-АОС), активности супероксиддисмутазы (SOD) в разные периоды времени после перенесенной пациентами инфекции COVID-19.

Результаты. У всех пациентов, перенесших инфекцию COVID-19, уровень параметров системного воспаления (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , CRP, PCT) не превышал

верхнюю границу нормальных значений в различные периоды измерения. В группе лиц с отсутствием жалоб спустя более 6 месяцев после заболевания отмечен более низкий уровень IL-4 ($p_{MW}=0,0013$), IL-10 ($p_{MW}=0,014$), PCT ($p_{MW}=0,036$). Показатели антиоксидантной защиты не выходили за диапазон нормальных значений и не имели различий в исследованных группах пациентов и по периодам. Концентрация NO_x плазмы крови у пациентов с клиническими проявлениями состояния после инфекции COVID-19 в позднем периоде исследования была значимо выше, чем у пациентов с отсутствием признаков данного состояния ($p=0,0013$), и имела связь с наличием клинических проявлений состояния после инфекции COVID-19 ($p=0,002$).

Заключение. Концентрация NO_x плазмы крови у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19, может служить объективным признаком нарушения функции эндотелия.

Ключевые слова: состояние после COVID-19, нитрат- и нитрит-ионы, антиоксидантная емкость, активность супероксиддисмутазы

Halinouskaya N.¹, Nikiforova O.¹✉, Voropaev E.¹, Kazlou A.², Osipkina O.¹, Barbarovich A.¹

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Gomel Regional Laboratory of Analytical Control of the Republican Center for Analytical Control in the Field of Environmental Protection, Gomel, Belarus

Significance of Systemic Inflammation and Endothelial Dysfunction Parameters in Patients with Post-COVID-19 Condition

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Halinouskaya N. – study concept and design, analysis and interpretation of results, text editing; Nikiforova O. – data collection, statistical data processing, analysis and interpretation of results, text writing; Voropaev E. – study concept and design, text editing; Kazlou A. – laboratory research, analysis and interpretation of results; Osipkina O. – laboratory research, analysis and interpretation of results; Barbarovich A. – data collection, statistical data processing, text writing.

Funding: the work was carried out within the framework of the State Scientific Research Program 4 "Translational Medicine" subprogram 4.2 "Fundamental Aspects of Medical Science": "3.38 To create an algorithm for predicting post-COVID-19 associated pathology based on the study of clinical, laboratory and functional indicators for 2022–2024".

Submitted: 15.04.2025

Accepted: 12.09.2025

Contacts: nikiforova.o.l@yandex.ru

Abstract

Introduction. The pathogenesis of post-COVID-19 symptoms, which lead to decreased quality of life and increased disability, remains poorly understood due to the lack of objective parameters. Given the role of endothelial dysfunction (ED) in vascular diseases patterning, its involvement in the pathogenesis of post-COVID-19 symptoms is hypothesized.

Purpose. To assess the significance of inflammatory markers level, nitrate and nitrite ion (NO_x) concentrations, and venous blood plasma antioxidant status parameters in patients with post-COVID-19 condition.

Materials and methods. During the period 2023–2024, a total of 137 patients (42 men, 95 women, aged 52 [46; 58] years) who underwent COVID-19 infection were examined: 98 subjects with long-term complaints, and 39 subjects with no complaints. After filling



out the checklist, all patients were assessed for NOx concentration, systemic inflammation indicators: interleukins (IL) IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor α (TNF- α), transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), procalcitonin (PCT), total antioxidant capacity of plasma (T-AOC), superoxide dismutase (SOD) activity at different periods of time after COVID-19 infection.

Results. In all patients who underwent COVID-19 infection, the level of systemic inflammation parameters (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , CRP, PCT) did not exceed the upper limit of normal values at different periods of measurement. Lower levels of IL-4 ($p_{MW}=0.0013$), IL-10 ($p_{MW}=0.014$), and PCT ($p_{MW}=0.036$) were observed in the group of subjects with no complaints after 6 months. Antioxidant protection indicators did not exceed the normal values range and did not differ between groups and periods. Blood plasma NOx concentrations in patients with clinical manifestations of post-COVID-19 condition in the late period of the study were significantly higher than in patients with no signs of this condition ($p=0.0013$) and correlated with the presence of clinical manifestations of post-COVID-19 condition ($p=0.002$).

Conclusion. Plasma NOx concentrations in patients who recovered from COVID-19 infection can serve as an objective indicator of ED.

Keywords: post-COVID-19 status, nitrate-nitrite ions, antioxidant capacity, superoxide dismutase activity

■ ВВЕДЕНИЕ

В марте 2020 года Всемирной организацией здравоохранения была объявлена пандемия новой коронавирусной инфекции, ассоциированной с вирусом SARS-CoV-2 семейства Coronaviridae (коронавирус-2, вызывающий острый респираторный синдром) [1, 2]. Целью ученых ряда стран в этот период времени стало активное изучение как самого вируса SARS-CoV-2 и его свойств, так и ассоциированных с ним заболеваний и отдаленных последствий перенесенной инфекции. Было выявлено прямое или опосредованное влияние вируса SARS-CoV-2 на различные органы и системы организма [3]. В настоящее время продолжается активное изучение состояния иммунной системы и ее ответа на инфицирование вирусом SARS-CoV-2, а также предикторов возникновения осложнений и пост-COVID-19 синдрома.

У ряда пациентов после перенесенной инфекции COVID-19 сохранялись имеющиеся или возникали *de novo* длительно проявляющиеся симптомы, совокупность которых получила название «состояние после инфекции COVID-19» [4, 5]. Greenhalgh T. и Shah W. с соавторами выделили в состоянии после инфекции COVID-19 две категории: long-COVID с длительностью симптомов от 4 до 12 недель и непосредственно сам постковидный синдром с продолжительностью нарушений более 12 недель [6, 7]. Chung Y. и соавторы среди факторов риска развития состояния после инфекции COVID-19 выделяют тяжелое течение инфекции COVID-19, наличие коморбидных заболеваний – таких как ожирение, сахарный диабет 2-го типа, бронхиальная астма, гипотиреоз, депрессия [8].

Четких диагностических критериев состояния после инфекции COVID-19, принятых большинством клиницистов, в настоящее время нет; данные по его распространенности в популяции в источниках литературы варьируют от 30 до 60% [5, 9–11].

Единое мнение ученых о возникновении и сохранении клинических симптомов состояния после инфекции COVID-19 к настоящему времени также отсутствует [5, 12]. Bathia G.E-S., Yin K. и Molnar T. с соавторами среди патогенетических механизмов, участвующих в развитии состояния после инфекции COVID-19, отмечают следующие: стойкий системный воспалительный ответ, клеточный дисметаболизм с нарушением функций митохондрий, персистенцию вируса SARS-CoV-2, реактивацию латентных вирусов, изменение микробиома пациента, активацию аутоиммунных механизмов, изменение коагуляционных характеристик крови [5, 13]. Одной из причин длительно сохраняющихся симптомов или появившихся новых, ранее не отмеченных, является системное воспаление [11] и ЭД [14]. К потенциальным триггерам состояния после инфекции COVID-19 Vojdani A. с соавторами отнесли усиление окислительного повреждения и снижение антиоксидантной защиты, нарушение микрососудистой регуляции, активацию каскада интерферонов, нарушение иммунной регуляции, генетическую предрасположенность, коморбидные заболевания пациента (сахарный диабет, ожирение, заболевания легких) [155].

Majumder N. и Zendelovska D. также активно изучали антиоксидантный статус и его роль в патофизиологии окислительно-восстановительного дисбаланса во время острого процесса инфекции COVID-19. В результате проведенного многофакторного анализа учеными были получены значительно более высокие уровни многих воспалительных и сосудистых маркеров у пациентов с тяжелым течением, госпитализированных в отделение интенсивной терапии, по сравнению с пациентами, не находящимися в отделении интенсивной терапии [16, 17]. Majumder N. и Zendelovska D. с соавторами предложили использовать показатели окислительного стресса в качестве предикторов тяжелого течения инфекции COVID-19, но в практическом здравоохранении данный методический подход в прогнозировании тяжести заболевания не нашел широкого использования.

Главным патогенетическим механизмом возникновения и длительного сохранения клинических симптомов состояния после инфекции COVID-19 авторы настоящего исследования считают дисфункцию эндотелия и сопровождающий его окислительно-восстановительный дисбаланс, который проявляется в снижении антиоксидантной активности плазмы крови. Одним из главных патогенетических механизмов ЭД является нарушение метаболизма монооксида азота (нитрат-ионы) (NO_x), который может выступать как медиатор воспаления [18]. Монооксид азота (NO), образующийся в эндотелиальных клетках и клетках иммунной системы (нейтрофилы), метаболизируется в организме до NO_x [19]. При патологических состояниях организма, которые сопровождаются хроническим воспалительным процессом, а также стрессе, онкологических заболеваниях концентрация NO_x в сыворотке крови увеличивается [19, 20]. Сосудистая дисфункция и нарушение биодоступности защитного оксида азота (NO) имеют решающее значение в прогрессировании таких заболеваний, как хронические обструктивные заболевания легких (ХОБЛ), сердечно-сосудистые заболевания, артериальная гипертензия, а также в реализации состояния после инфекции COVID-19 [21, 22].

Диагностическими маркерами ЭД являются помимо уровня NO_x ангиотензин II, гомоцистеин, простациклин. Однако доступность этих маркеров в рутинной клинической практике сильно различается. Определение простациклина в повседневной клинической практике сопряжено со сложностями ввиду нестабильности данного



метаболита [23]. Сложность определения ангиотензина II связана с его низкой концентрацией в плазме, коротким периодом полураспада и наличием структурно схожих пептидов, что требует использования высокотехнологичных методов, недоступных для рутинной лаборатории [24]. В противовес этому существуют стандартизированные методики определения NO_x и гомоцистеина. Для гомоцистеина характерна низкая специфичность [25, 26]. В свою очередь, изменение концентрации NO_x , отражая состояние ЭД, является более чувствительным маркером нарушения функции эндотелия [27].

Ранее проводилось изучение концентрации NO_x у пациентов в остром периоде инфекции COVID-19 и была показана их роль как возможного предиктора тяжести заболевания [8, 22]. Авторы настоящего исследования задались целью определить возможное наличие взаимосвязи между развитием состояния после инфекции COVID-19, нарушением функции эндотелия и антиоксидантным статусом пациентов.

Евсеенко Д.А. и соавторы в своем исследовании определяют антиоксидантный статус как комплексную динамичную гомеостатическую систему организма, определяющую такие параметры, как развитие, течение и исход заболевания [28]. В живом организме про- и антиоксидантные системы представлены ферментными и неферментными составляющими. Одним из ферментных антиоксидантов, вырабатываемых в организме и тормозящих перекисное окисление липидов и белков, является супероксидаза (SOD), которая присутствует во всех тканях организма человека [29]. Не менее важным для определения антиоксидантного статуса организма служит Т-АОС, которая включает в себя сочетанное влияние каталазы, SOD, глутатиона, витаминов С и Е (альфа-токоферола).

Таким образом, определение отдельных компонентов антиоксидантного статуса и маркеров ЭД методами, доступными широкой медицинской практике, может способствовать прогнозированию сохранения симптомов состояния после инфекции COVID-19 и использованию их для определения дополнительных путей медицинской профилактики.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить значимость определения уровня воспалительных маркеров, концентрации нитрат- и нитрит-ионов (NO_x) и параметров антиоксидантного статуса плазмы венозной крови у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: на первом этапе – поперечное сплошное, на втором – проспективное одноцентровое когортное исследование.

Исследование проводилось на базе государственного учреждения здравоохранения «Гомельская центральная городская клиническая поликлиника», филиал № 12 и научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» (УО «ГомГМУ»).

Критериями включения в исследование были: перенесенная инфекция COVID-19 в легкой и средней степени тяжести, возраст ≥ 18 лет, наличие добровольного информированного согласия, одобренного этическим комитетом УО «ГомГМУ» (протокол № 5 от 14.12.2021).

Критериями исключения являлись: возраст <18 лет, отсутствие информированного согласия и других критериев включения, наличие других заболеваний нервной, костно-мышечной системы, проявлением которых могли быть выявленные нарушения проантиоксидантного статуса, иные инфекционные заболевания и психические расстройства.

При проведении исследования у всех пациентов было получено добровольное информированное согласие.

Основную группу наблюдения составили пациенты, которые перенесли инфекцию COVID-19 и у которых возникли de novo или сохранялись более 4 недель после перенесенной острой инфекции жалобы разного характера. В состав основной группы вошли 98 чел. (72% от всего контингента исследованных лиц), из них женщины составили 77% (75 чел.) с медианой возраста 55 лет [48; 58], мужчины – 23% (23 чел.) с медианой возраста 55 лет [48; 58].

Основная группа наблюдения была подразделена на три подгруппы в зависимости от срока давности перенесенной COVID-инфекции: пациенты первой подгруппы перенесли инфекцию COVID-19 от 1 до 3 месяцев тому назад, второй – от 3 до 6 месяцев, третьей – более полугода. Половозрастная характеристика пациентов этих подгрупп представлена в табл. 1.

Группу сравнения составили 28% (39 чел.) пациентов – из лиц, перенесших инфекцию COVID-19 и не предъявлявших жалоб в последующем.

Диагноз инфекции COVID-19 был подтвержден методом полимеразной цепной реакции с обнаружением генетического материала SARS-CoV-2 у 96% (132) пациентов; методом экспресс-теста – у 4% (5) пациентов.

Состояние после инфекции COVID-19 чаще возникало у женщин в возрасте старше 50 лет, что соотносится с данными, описанными в источниках литературы последних лет [30].

Распределение сопутствующих заболеваний у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19, представлено в табл. 2.

Наиболее часто среди факторов преморбидного фона состояния после инфекции COVID-19 встречались артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность, заболевания щитовидной железы, дегенеративно-дистрофические заболевания опорно-двигательного аппарата, заболевания почек и ожирение. В группе сравнения эти же заболевания встречаются несколько реже по сравнению с основной группой.

Таблица 1
Половозрастная характеристика основной группы наблюдения
Table 1
Age and gender characteristics of the main observation group

| Пол | 1-я подгруппа | | 2-я подгруппа | | 3-я подгруппа | |
|---------|---------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|
| | Количество | Med [LQ; UQ] | Количество | Med [LQ; UQ] | Количество | Med [LQ; UQ] |
| Мужчины | 7 | 50 [41; 60] | 13 | 51 [47; 54] | 3 | 55 [52; 55,5] |
| Женщины | 32 | 56 [41; 64,3] | 38 | 53,5 [49,3; 56] | 5 | 56 [51; 56] |
| Всего | 39 | 56 [41; 64] | 51 | 52 [49; 56] | 8 | 55,5 [50,5; 56] |



Таблица 2

Характеристика сопутствующих заболеваний у пациентов основной группы и группы сравнения

Table 2

Characteristics of concomitant diseases in patients of the main and comparison groups

| Группа | Основная | | | Сравнения | | |
|--|----------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| Заболевание | Общая, % | Мужчины, % | Женщины, % | Общая, % | Мужчины, % | Женщины, % |
| Ишемическая болезнь сердца | 20 | 9 | 24 | 20 | 26 | 17 |
| Инфаркт миокарда | 20 | – | 33 | 5 | 17 | – |
| Малые аномалии развития сердца | 10 | 4 | 12 | 9 | 7 | 10 |
| Нарушение ритма сердца | 18 | 4 | 23 | 13 | 11 | 14 |
| Хроническая сердечная недостаточность | 20 | 5 | 24 | 11 | 15 | 10 |
| Артериальная гипертензия | 52 | 43 | 55 | 43 | 41 | 45 |
| Заболевания нервной системы | 60 | 48 | 64 | 46 | 33 | 52 |
| Цервикалгия | 19 | – | 25 | 20 | 11 | 24 |
| Люмбалгия | 29 | 35 | 27 | 23 | 15 | 29 |
| Хронический гастрит | 24 | 9 | 28 | 24 | 15 | 29 |
| Стеатогепатоз | 16 | 26 | 13 | 6 | 4 | 7 |
| Липоматоз поджелудочной железы | 14 | 22 | 12 | 4 | 4 | 5 |
| Сахарный диабет | 5 | 9 | 4 | 4 | 4 | 5 |
| Заболевания щитовидной железы | 41 | 26 | 45 | 26 | 19 | 29 |
| Ожирение | 28 | 35 | 25 | 11 | 11 | 12 |
| Заболевания соединительной ткани | 20 | 17 | 21 | 10 | 7 | 12 |
| Первичный полиостеоартрит | 23 | 13 | 27 | 11 | 7 | 14 |
| Заболевания почек | 32 | 22 | 35 | 30 | 30 | 31 |
| Злокачественное новообразование в анамнезе | 11 | 4 | 13 | 10 | – | 17 |

Взятие венозной крови из кубитальной вены осуществлялось утром натощак в обработанные этилендиамином одноразовые пробирки, после чего биологический материал непосредственно доставлялся в НИЛ УО «ГомГМУ», где образцы плазмы крови после их получения и до постановки тестов хранились при -80°C .

Определение активности SOD производилось по методу Т.В. Сироты, основанному на способности фермента влиять на скорость реакции автоокисления адреналина гидрохлорида [31]. В измерительную кювету с 2 мл 0,2 моль/л карбонатного буфера (рН 10,55) вносилось 0,1 мл раствора адреналина гидрохлорида, перемешивалось, и регистрировалось автоокисление адреналина на спектрофотометре при длине волны 347 нм. Изменение оптической плотности в единицу времени оценивалось как скорость реакции автоокисления адреналина. Затем измерялся этот же показатель

при внесении в тест-систему плазмы крови. Процент ингибирования или активации реакции в присутствии плазмы крови вычислялся по формуле:

$$\% \text{ ингибирования (е. а.)} = [1 - (\Delta E_{\text{опыт}} / \Delta E_{\text{контроль}})] \times 100\%,$$

где ΔE опыт и ΔE контроль – изменения оптической плотности, отражающей скорость реакции автоокисления адреналина в опытной и контрольной пробах соответственно, в присутствии и при отсутствии плазмы крови.

Способность к ингибированию автоокисления адреналина оценивалась как активность SOD плазмы крови, выраженная в условных единицах – в единицах активности (е. а.).

Перед выполнением анализа на предмет определения уровня NO_x плазмы крови образцы размораживались при 4 °C, после чего подвергались центрифугированию (10 000 g, 10 мин., 4 °C). Определение суммарной концентрации NO_x в плазме крови выполнялось колориметрическим методом с реактивом Грисса и предварительным переводом нитрат-ионов в нитрит-ионы нитратредуктазой (использовался коммерческий набор реагентов фирмы Invitrogen Catalog Number: EMSNO) в соответствии с инструкцией производителя. Предварительно образцы плазмы разбавлялись в 8 раз раствором-разбавителем из состава набора. Для выполнения определения использовалось необходимое оборудование, имевшееся в НИЛ УО «ГомГМУ»: центрифуга, микропланшетный термощейкер, микропланшетный ридер-фотометр. Суммарная концентрация NO_x в образцах рассчитывалась в программном обеспечении Magellan V7.2 (Tecan, Austria, GmbH) по калибровочной кривой (0–100 мкМ нитрат-ионов) и с учетом примененного разведения исходных образцов.

Общая антиокислительная активность (Т-АОС) определялась колориметрическим методом с использованием коммерческой тест-системы (Elabscience Total Antioxidant Capacity Colorimetric Assay Kit, Catalog No: E-BC-K136-S). Постановка теста осуществлялась в соответствии с инструкцией производителя в собственной модификации и предусматривала постановку с каждым образцом двух вариантов теста (Sample plate и Control plate). В обоих вариантах постановки теста каждый образец анализировался дважды.

Методом иммуноферментного анализа с применением микропланшетного фотометра SunriseTecan (Австрия) определялись концентрации IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, высокочувствительного CRP, TNF- α , TGF- β 1 и PCT, для чего использовался набор реагентов «ИФА-БЕСТ» (производства ВЕКТОР-БЕСТ, Российская Федерация). Значения показателей тестов, принимаемые за нормальный диапазон, были указаны в инструкции: IL-1 β – 2,0 нг/л (0–11 нг/л); IL-4 – 1,0 нг/л (0–4 нг/л); IL-6 – 2,0 нг/л (0–10 нг/л); для IL-8 – 2,0 нг/л (0–10,0 нг/л); IL-10 – 5,0 нг/л (0–31,0 нг/л); TNF- α – 0,5 нг/л (0–6,0 нг/л); уровень CRP – 8 мг/л (0–10 мг/л); PCT – 0,04 нг/л (0–0,05 нг/л).

Результаты исследования были внесены в обезличенную базу и подвергнуты анализу с помощью пакета программ STATISTICA 10.0. Для анализа количественных данных определялось их распределение с применением теста Шапиро – Уилка. Отличающиеся от нормального распределения результаты представлялись в виде медианы (Me), верхнего и нижнего 75% процентилей (LQ–UQ).

Для оценки различий количественных признаков двух независимых групп с ненормальным распределением использовали U-критерий Манна – Уитни (MW),



при множественных сравнениях – Краскела – Уоллиса (KW). К достоверным различиям отнесено значение $p < 0,05$. Наличие связи определяемых параметров и состояния после инфекции COVID-19 определялось с помощью множественной регрессии. Прогностическая значимость NO_x определялась посредством построения ROC-кривой. Для определения оптимального порога отсечения значений показателей применяли метод Йодена. Сравнение площадей под ROC-кривыми (AUC) осуществляли с помощью теста Де Лонга. При значении AUC, равном 0,9–1,0, качество модели оценивалось как отличное, 0,8–0,9 – как очень хорошее, 0,7–0,8 – как хорошее, 0,6–0,7 – как среднее, 0,5–0,6 – неудовлетворительное. Для подготовки иллюстрации был использован язык программирования R.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектр предъявляемых жалоб у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19 представлен в табл. 3 в соответствии с периодом давности перенесенной COVID-инфекции: от 1 до 3 месяцев, от 3 до 6 месяцев, более полугода.

Наиболее часто встречающиеся жалобы неспецифичны и представлены быстрой утомляемостью, слабостью, болями в суставах и позвоночнике, снижением памяти.

Учитывая данные, приведенные в источниках литературы [5, 8, 11, 12], мы предполагали участие системного воспалительного процесса в реализации клинической картины состояния после инфекции COVID-19. Вялотекущие воспалительный процесс и ЭД могли лежать в основе и наиболее часто формирующихся осложнений перенесенной инфекции COVID-19 – сахарного диабета 2-го типа, инфаркта мозга, прогрессирующей сердечной недостаточности [8, 12, 14]. Эту же гипотезу поддерживали данные об участии «цитокинового шторма» в патогенезе тяжелых форм инфекции

Таблица 3
Распространенность и степень выраженности симптомов состояния после инфекции COVID-19 у пациентов с разной степенью давности перенесенной COVID-19-инфекции
Table 3

Prevalence and severity of symptoms after COVID-19 infection in patients with varying degrees of duration of COVID-19 infection

| Жалобы | 1-й период | | | | 2-й период | | | | 3-й период | | | |
|----------------------|------------|--------|-----------|------------|------------|--------|-----------|------------|------------|--------|-----------|------------|
| | % | легкие | умеренные | выраженные | % | легкие | умеренные | выраженные | % | легкие | умеренные | выраженные |
| Слабость | 39 | 36 | 3 | – | 34 | 24 | 10 | – | 15 | – | 15 | – |
| Усталость | 18 | 10 | 5 | 3 | 20 | 6 | 14 | – | – | – | – | – |
| Быстрая утомляемость | 59 | 23 | 36 | – | 55 | 18 | 35 | 2 | 57 | 43 | 14 | – |
| Нарушение сна | 31 | 23 | 8 | – | 22 | 8 | 14 | – | 14 | 14 | – | – |
| Снижение памяти | 28 | 23 | 5 | – | 28 | 20 | 8 | – | 29 | 29 | – | – |
| Головная боль | 18 | 15 | 3 | – | 14 | 14 | – | – | – | – | – | – |
| Одышка | 18 | 5 | 13 | – | 28 | 18 | 10 | – | – | – | – | – |
| Колебания АД | 18 | 15 | 3 | – | 8 | 4 | 4 | – | 14 | 14 | – | – |
| Боли в суставах | 51 | 43 | 8 | – | 53 | 37 | 14 | 2 | 86 | 72 | 14 | – |
| Боли в позвоночнике | 15 | 13 | 2 | – | 8 | 6 | 2 | – | 43 | 29 | 14 | – |

COVID-19. Для анализа этой гипотезы было проведено исследование концентрации IL, TNF- α , PCT, TGF- β 1 и CRP, параметров антиоксидантной защиты, уровня NO $_x$ у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19, с сохраняющимися жалобами и без таковых в различные временные периоды.

Лабораторные данные, полученные при выполнении первого этапа исследования, представлены в табл. 4: в соответствии с периодом давности перенесенной COVID-инфекции пациентами, впервые включенными в исследование.

Таблица 4
Результаты лабораторных исследований плазмы крови пациентов с разной степенью давности перенесенной COVID-19-инфекции
Table 4
Results of blood plasma laboratory tests of patients with different degrees of duration of COVID-19 infection

| Параметр | 1-й период | 2-й период | 3-й период | p _{KW} |
|------------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|
| Основная группа / группа сравнения | Med [LQ; UQ] | | | |
| NO $_x$, мкмоль/л | 200 [100; 311,1] | 222,2 [42,9; 288,9] | 150 [133,3; 160] | p=0,58 |
| NO $_x$, мкмоль/л | 214,3 [39,3; 288,9] | 155,8 [112; 387,9] | 12,6 [11,6; 19,5]*, ** | p=0,0000 |
| T-AOC, Ед/мл | 5,6 [4,9; 7,7] | 5,4 [2,8; 7,8] | 5,7 [2,8; 8,4] | p=0,41 |
| T-AOC, Ед/мл | 6,1 [3,8; 9,9] | 4,6 [4,1; 8,6] | 5,1 [3,6; 8,8] | p=0,66 |
| SOD, Ед/мл | 1,3 [1,1; 1,7] | 1,2 [1,1; 1,6] | 1,3 [1,1; 1,4] | p=0,58 |
| SOD, Ед/мл | 1,3 [1,2; 1,4] | 1,4 [1,1; 1,7] | 1,3 [1,2; 1,4] | p=0,9 |
| IL-1 β , нг/л | 0,2 [0; 0,9] | 0 [0; 0,8] | 0,2 [0; 0,5] | p=0,73 |
| IL-1 β , нг/л | 0,9 [0; 2,2] | 0,3 [0; 1] | 0 [0; 1,3] | p=0,18 |
| IL-4, нг/л | 0,2 [0; 0,6] | 0 [0; 0,7] | 0 [0; 0,3] | p=0,38 |
| IL-4, нг/л | 0,5 [0,2; 0,9] | 0 [0; 1] | 0 [0; 0,2]* | p=0,0013 |
| IL-6, нг/л | 2,1 [1,5; 3,2] | 3,1 [2; 4,6] | 2,9 [2,1; 4,1] | p=0,06 |
| IL-6, нг/л | 1,9 [1,2; 3,2] | 2 [1,2; 3,9] | 2,1 [1,6; 3,4] | p=0,56 |
| IL-8, нг/л | 3,6 [2,7; 4,9] | 4 [2,8; 5,5] | 4,3 [3,8; 6,1] | p=0,33 |
| IL-8, нг/л | 3,8 [2,8; 4,5] | 3,4 [2,5; 5,7] | 3 [2,2; 4,9] | p=0,52 |
| IL-10, нг/л | 3,7 [2,9; 5] | 3,1 [2,4; 5] | 3 [2,1; 4,6] | p=0,37 |
| IL-10, нг/л | 3,4 [2,9; 4,4] | 3,7 [2,7; 5,6] | 2,3 [0,8; 4,1]* | p=0,014 |
| CRP, мг/л | 2,1 [0,9; 5,4] | 2 [0,9; 3,7] | 2,2 [0,9; 11,8] | p=0,8 |
| CRP, мг/л | 2,2 [0,5; 3,7] | 2,3 [1,6; 8] | 2,8 [1,4; 9,3] | p=0,26 |
| TNF- α , мкг/л | 1,9 [1,1; 3,1] | 1,3 [0,8; 1,8] * | 1,7 [0,9; 2,3] | p=0,012 |
| TNF- α , мкг/л | 2,2 [1,7; 3,2] | 1,8 [1,4; 2,5] | 0,5 [0; 1,7]*, ** | p=0,0002 |
| TGF- β 1, мкг/л | 2391 [1850,9; 2589,2] | 1960,1 [1846,3; 2430,8] | 2250,8 [1916,2; 2604,6] | p=0,12 |
| TGF- β 1, мкг/л | 2463 [1920,2; 3059,4] | 1996 [1884,2; 2226,6] * | 2272 [1351,3; 2861,8] | p=0,05 |
| PCT, мкг/л | 0,05 [0,03; 0,05] | 0,02 [0,01; 0,03] * | 0,04 [0,02; 0,07] | p=0,0004 |
| PCT, мкг/л | 0,05 [0,03; 0,06] | 0,03 [0,01; 0,05] | 0,04 [0,03; 0,06] ** | p=0,036 |

Примечания: * p_{MW}<0,05 по сравнению с первым периодом наблюдения; ** p_{MW}<0,05 по сравнению со вторым периодом наблюдения.



Как следует из табл. 4, имеют место достоверные различия у пациентов с постковидным синдромом с разным сроком давности перенесенной COVID-19-инфекции по тестам: TNF- α , TGF- β 1 и PCT ($p_{MW}=0,0002$; $p_{MW}=0,05$ и $p_{MW}=0,036$ соответственно) в сравнении с аналогичными показателями у лиц группы сравнения. Эти же параметры были ниже у лиц основной группы во втором периоде наблюдения: TNF- α , TGF- β 1 и PCT ($p_{MW}=0,012$; $p_{MW}=0,05$ и $p_{MW}=0,0004$ соответственно), однако в третьем периоде изучаемые параметры не имели отличий от начальных.

Также в группе с отсутствием жалоб имели место более низкие значения концентрации IL-4 и IL-10 в третьем периоде наблюдения ($p_{MW}=0,0013$ и $p_{MW}=0,014$ соответственно).

Значения концентраций показателей антиоксидантного статуса, такие как SOD и T-AOC, не выявили достоверных различий у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19 и без него.

Значения концентрации NO $_x$ в плазме крови пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в разные временные интервалы со времени перенесенного заболевания, представлены нами на рис. 1.

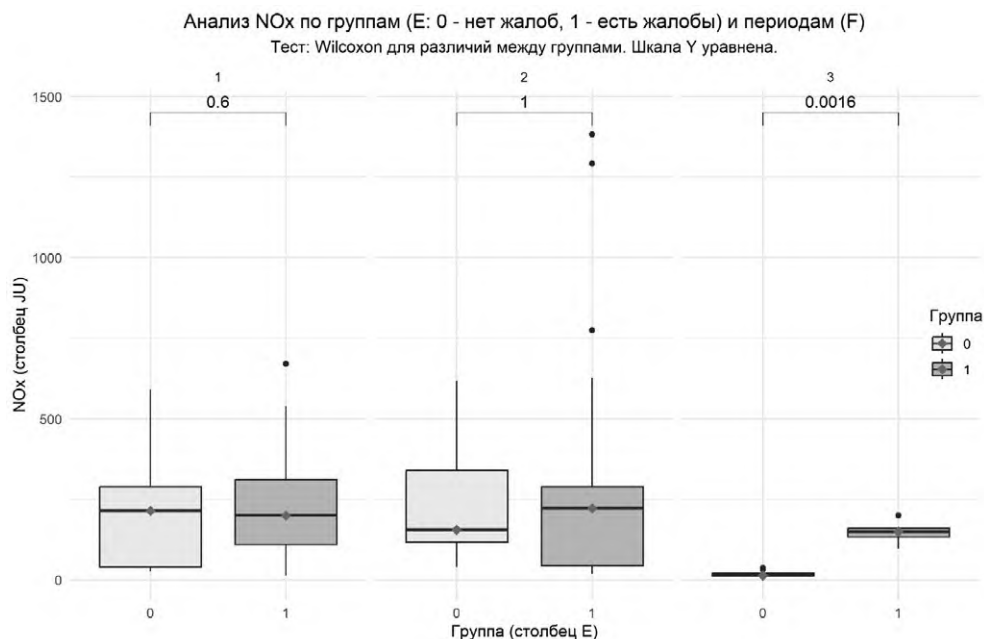


Рис. 1. Распределение NO $_x$ у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в разные периоды времени, в основной группе и группе сравнения: 0 – пациенты, перенесшие инфекцию COVID-19 без жалоб; 1 – пациенты с состоянием после инфекции COVID-19. Периоды указаны в верхней части рисунка: 1 – от 1 до 3 месяцев; 2 – от 3 до 6 месяцев; 3 – более 6 месяцев, AUC=0,656; $p_{MW}=0,002$

Fig. 1. Distribution of NO $_x$ in patients who underwent COVID-19 infection at different periods of time in the main group and the comparison group: 0 – patients after COVID-19 infection with no complaints; 1 – patients with post-COVID-19 condition. The periods are indicated at the top of the figure: 1 – from 1 to 3 months; 2 – from 3 to 6 months; 3 – more than 6 months, AUC=0.656; $p_{MW}=0.002$

Из приведенной диаграммы следует, что уровень NO_x у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в первое полугодие после острого периода заболевания, сохранялся на одном уровне, в четыре раза превышая верхние границы нормального интервала (5–90 мкмоль/л). Этот факт может свидетельствовать о наличии в изучаемых группах признаков ЭД [20, 22].

В третьем периоде наблюдалось значительное уменьшение показателей данного параметра ($p=0,001$) только лишь у лиц с отсутствием жалоб.

Таким образом, исходя из приведенных значений анализируемых параметров, нами был выявлен показатель, объективно указывающий на патофизиологическую основу сохранения жалоб у пациентов с состоянием после инфекции COVID-19.

Интегральное уравнение множественной регрессии для трех медиаторов – ЭД, NO_x и антиоксидантного статуса (SOD, T-AOC) – имело следующий вид:

$$\text{Наличие жалоб} = 0,117 \times \text{AOE} - 0,36 \times \text{NO} - 0,07 \times \text{SOD}$$

$$R=0,4077 \quad R^2=0,1662 \quad \text{Adjusted } R^2 = 0,1500$$

$$F=10,23 \quad p=0,000003 \quad N=158$$

Модель статистически значима, но имеет ограниченную практическую полезность из-за низкой объясняющей способности. NO_x является единственным сильным предиктором.

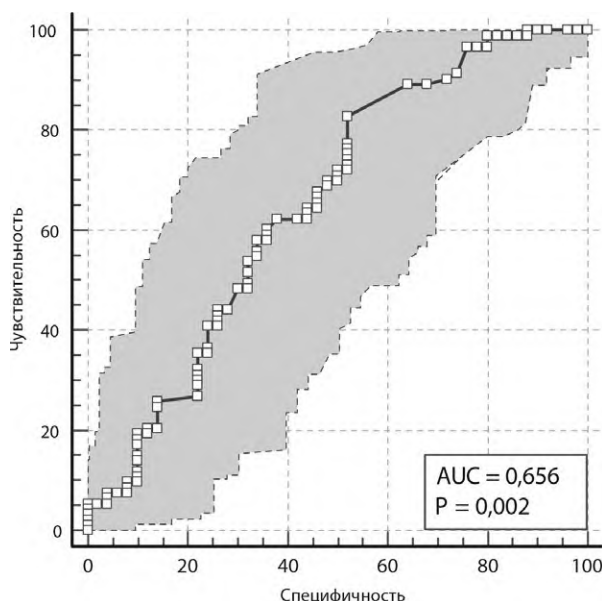


Рис. 2. Влияние концентрации NO_x на формирование проявлений симптомов после инфекции COVID-19 (AUC 0,656; 95% ДИ нижняя граница 0,556; 95% ДИ верхняя граница 0,755; оптимальный порог 41,075; чувствительность 82,8%; специфичность 48%; индекс Юдена 0,308)

Fig. 2. NO_x concentration's effect on the onset of post-COVID-19 symptoms manifestations (AUC 0.656; 95% CI lower limit 0.556; 95% CI upper limit 0.755; optimal threshold 41.075; sensitivity 82.8%; specificity 48%; Youden index 0.308)



Учитывая тот факт, что наибольший коэффициент регрессии был получен нами для NO_x , дальнейший анализ прогностической значимости проводился нами для этого параметра.

Построение ROC-кривой выявило влияние концентрации NO_x на формирование проявлений состояния после инфекции COVID-19 с диагностической чувствительностью 83% и диагностической специфичностью 48% (рис. 2).

Высокая диагностическая чувствительность NO_x , установленная в ходе выполнения анализа, была более значима, чем диагностическая специфичность, так как рядом исследований была доказана роль NO_x в возникновении эндотелиальной дисфункции, которая является главным патогенетическим механизмом в возникновении состояния после инфекции COVID-19 [22].

Результаты проведенного исследования показали, что уровень про- и противовоспалительных цитокинов не превышал пределы нормальных интервалов, независимо от наличия жалоб у пациентов, что отклоняло гипотезу о значительном влиянии системного воспаления на клиническую картину состояния после инфекции COVID-19. Между тем в группе пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 и не имеющих жалоб, наблюдался несколько меньший уровень концентрации IL-4, IL-10, РСТ в третьем периоде наблюдения. Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса не имели существенных различий и на вероятность возникновения жалоб у пациентов не влияли. Наибольшей значимостью в оценке состояния после перенесения COVID-19-инфекции обладал тест определения концентрации NO_x в плазме венозной крови. Этот параметр имел существенно более низкие значения в группе пациентов без клинической картины проявления патологии в третьем периоде наблюдения, в котором он не превышал значения здоровых лиц.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило предложить использование теста определения концентрации NO_x в плазме венозной крови в качестве объективного показателя, указывающего на формирование эндотелиальной дисфункции у пациентов с состоянием после COVID-19, что в свою очередь может способствовать оптимизации отбора лиц, перенесших COVID-19-инфекцию, для проведения вторичной медицинской профилактики.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. COVID-19. Overview and Recommendations. DynaMed. Available at: <https://www.dynamed.com/condition/covid-19#GUID-C851C3C1-5E99-495E-A831-3BF27FC59059> (accessed April 18, 2025).
2. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S. et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020;5(4):536–544. doi: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
3. Yuan Y., Jiao B., Qu L. et al. The development of COVID-19 treatment. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1125246. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1125246>
4. Santana-de Anda K., Torres-Ruiz J., Mejía-Domínguez N.R. et al. Novel Clinical, Immunological, and Metabolic Features Associated with Persistent Post-Acute COVID-19 Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(17):9661. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms25179661>
5. Peluso M.J., Deeks S.G. Mechanisms of long COVID and the path toward therapeutics. *Cell*. 2024;187(20):5500–5529. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.07.054>
6. Greenhalgh T., Knight M., A'Court C. et al. Management of post-acute covid-19 in primary care. *BMJ*. 2020;370:3026. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m3026>
7. Shah W., Hillman T., Playford E.D. et al. Managing the long term effects of COVID-19: Summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline. *BMJ*. 2021;372:136. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.n136>

8. Chung Y.S., Lam C.Y., Tan P.H. et al. Comprehensive Review of COVID-19: Epidemiology, Pathogenesis, Advancement in Diagnostic and Detection Techniques, and Post-Pandemic Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(15):8155. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms25158155>
9. Peluso M.J., Kelly J.D., Lu S. et al. Persistence, Magnitude, and Patterns of Postacute Symptoms and Quality of Life Following Onset of SARS-CoV-2 Infection: Cohort Description and Approaches for Measurement. *Open Forum Infectious Diseases*. 2022;9(2):640. doi: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab640>
10. Kenny G., McCann K., O'Brien C. et al. Identification of Distinct Long COVID Clinical Phenotypes Through Cluster Analysis of Self-Reported Symptoms. *Open Forum Infectious Diseases*. 2022;9(4):ofac060. doi: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac060>
11. Yin K., Peluso M.J., Luo X. et al. Long COVID manifests with T cell dysregulation, inflammation and an uncoordinated adaptive immune response to SARS-CoV-2. *Nature Immunology*. 2024;25(2):218–225. doi: <https://doi.org/10.1038/s41590-023-01724-6>
12. Chung Y.S., Lam C.Y., Tan P.H. et al. Comprehensive Review of COVID-19: Epidemiology, Pathogenesis, Advancement in Diagnostic and Detection Techniques, and Post-Pandemic Treatment Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(15):8155. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms25158155>
13. Molnar T., Lehoczi A., Fekete M. et al. Mitochondrial dysfunction in long COVID: mechanisms, consequences, and potential therapeutic approaches. *Geroscience*. 2024;46(5):5267–5286. doi: <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01165-5>
14. Belotserkovskaya Yu., Romanovskikh A., Smirnov I. et al. Long COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021;23(3):261–268. (in Russ) doi: 10.26442/20751753.2021.3.200805
15. Vojdani A., Vojdani E., Saidara E. et al. Persistent SARS-CoV-2 Infection, EBV, HHV-6 and Other Factors May Contribute to Inflammation and Autoimmunity in Long COVID. *Viruses*. 2023;15(2):400. doi: 10.3390/v15020400
16. Majumder N., Deepak V., Hadique S. et al. Redox imbalance in COVID-19 pathophysiology. *Redox Biology*. 2022;56:102465. doi: 10.1016/j.redox.2022.102465
17. Zendelovska D., Atanasovska E., Petrushevska M. et al. Evaluation of oxidative stress markers in hospitalized patients with moderate and severe COVID-19. *Romanian Journal Internal Medicine*. 2021;59(4):375–383. doi: 10.2478/rjim-2021-0014
18. Somova L., Plekhova N. Nitric oxide as a mediator of inflammation. *Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2006;2:77–80. (in Russian) Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/oksid-azota-kak-mediator-vospaleniya> (accessed April 18, 2025).
19. El Boghdady N.A., Badr G.A. Evaluation of oxidative stress markers and vascular risk factors in patients with diabetic peripheral neuropathy. *Cell Biochemistry and Function*. 2012;30(4):328–334. doi: 10.1002/cbf.2808
20. Starodubtseva M., Voropayev E., Petrenyov D. et al. Nitrite and nitrate ion distribution in blood of men from Gomel region depending on oncomarker concentration (prostate specific antigen, cancer antigen 19-9, carcinoembryonic antigen and alpha fetoprotein). *Health and Ecology Issues*. 2014;4:101–106. (in Russian) doi: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2014-11-4-19>
21. Halinowskaya N., Smychek V. *Transient cerebrovascular accidents: features of pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic and treatment possibilities*. Gomel: GomGMU; 2019. (in Russian)
22. Wang J., Mei F., Bai L. et al. Serum nitrite and nitrate: A potential biomarker for post-covid-19 complications? *Free Radical Biology and Medicine*. 2021;175:216–225. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.237
23. Kortz L., Dorow J., Ceglarek U. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of eicosanoids and related lipids in human biological matrices: a review. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2014;1:964:1–11. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.01.046
24. Maurer J., de Groot A., Martin L. et al. Quantification of endogenous Angiotensin 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, and 1-5 in human plasma using micro-UHPLC-MS/MS: Outlining the importance of the pre-analytics for reliable results. *J Pharm Biomed Anal*. 2024;15:243:116101. doi: 10.1016/j.jpba.2024.116101
25. Yuan D., Chu J., Lin H. et al. Mechanism of homocysteine-mediated endothelial injury and its consequences for atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2023;16:9:1109445. doi: 10.3389/fcvm.2022.1109445
26. Emrich I.E., Obeid R., Geisel J. et al. Association of Homocysteine, S-Adenosylhomocysteine and S-Adenosylmethionine with Cardiovascular Events in Chronic Kidney Disease. *Nutrients*. 2025;10:17(4):626. doi: 10.3390/nu17040626
27. Lundberg J.O., Weitzberg E., Gladwin M.T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(2):156–67. doi: 10.1038/nrd2466
28. Evseenko D., Dundarov Z., Chueshova N. et al. Unity of criteria of antioxidant status before treatment of patients with liver cirrhosis and acute blood loss. *Health and Ecology Issues*. 2024;21(4):37–44. (in Russian) doi: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-04>
29. Nikitina O., Darenskaya M., Semenova N. et al. Antioxidant defense system: regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(3):4–17. (in Russian) doi: <https://doi.org/10.18699/SSMJ20220301>
30. Nikiforova O., Galinowskaya N., Voropaev E. et al. Prevalence of symptoms of COVID-19 infection 9 months after the disease in mild and moderate forms in an outpatient condition. *Healthcare*. 2023;11(920):5–11. (accessed April 18, 2025) (in Russian) doi: https://rncmt.by/files/00106/obj/110/73733/doc/ZDRAV_23_11.pdf
31. Sirota T. Use of nitroblue tetrazolium in the reaction of adrenaline autooxidation to determine the activity of superoxide dismutase. *Biomedical Chemistry*. 2013;59(4):399–410. (in Russian) doi: 10.18097/PBMC20135904399