

SERUM CERULOPLASMIN AS A PROGNOSTIC INDICATOR OF LONG COVID

Sumy State University (Sumy, Ukraine)

o.saienko@kinf.sumdu.edu.ua

The correlations of serum ceruloplasmin levels in patients with Long COVID (n = 35) with clinical and epidemiological features and the possibility of using indicators to predict the course of the disease were studied. The comparison group consisted of 42 clinically and anamnestically healthy persons. The gender distribution in the groups was uneven, with a predominance of women, which is in line with current research. The majority of respondents at the time of the survey had contracted COVID-19 3-6 months before the survey (49%), which corresponded to the spread of the Omicron strain. Ceruloplasmin in patients with Long COVID (47.86 (39.00-50.00) mg/dl) was 2 times higher than in the comparison group (23.95 (19.00-29.25) mg/dl) ($p < 0.05$). An increase in ceruloplasmin levels was observed in patients with a shorter period after COVID-19 disease, respectively, after 12 months and more, it decreased by 45% compared with 3 months, by 25% - from 3 to 6 months ($p < 0.05$). Ceruloplasmin levels were directly correlated with leukocyte count and total inflammation index in both groups ($p < 0.05$), indicating its involvement in the immune response at the level of other cytokines in patients with Long COVID.

Key words: COVID-19, Long COVID, intoxication, inflammation, immunology, ceruloplasmin, correlation, prognosis, health.

Connection of the publication with planned research works.

The study was carried out as part of the research work of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology of Sumy State University "Clinical and epidemiological features of viral, bacterial and parasitic infections depending on immunological, genetic and metabolic factors, optimisation of diagnostic and therapeutic measures", state registration number 0121U11571.

Introduction.

SARS-CoV-2 is the virus that causes COVID-19 and has caused nearly 7 million deaths worldwide. However, after recovery, some patients may persist and/or develop new symptoms for a long time, now known as Long COVID (LC) [1]. The most common symptoms include fatigue, shortness of breath on exertion, insomnia, malaise, cognitive impairment, myalgia, cough, anosmia, arthralgia, chest pain, fever, and tachycardia [2-4].

In terms of epidemiological features, most researchers associate LC with female patients with diabetes mellitus, obesity, cardiovascular disease, as well as with an increased SARS-CoV-2 viral load and patients with severe COVID-19 [1-5].

The pathogenetic mechanisms of these symptoms are unclear, and several main theories have been proposed: immunological dysregulation, autoimmunity and immune priming, the effect of SARS-CoV-2 on the microbiota, microvascular coagulation with endothelial dysfunction, and dysfunctional signal transduction in the brainstem and/or vagus nerve [6-9].

Immunological abnormalities in patients with LC include changes in T cells, a decrease in the number of CD4+ memory effector cells (secreting interleukin (IL)-4 and IL-6) and CD8+, increased expression of type I and type III interferons (IFN α 1 and IFN β), an increase in the number of activated monocytes, B cells, and elevated levels of cytokines (including IL-1 β , IL-6, and tumour necrosis factor (TNF)) [8-11]. A special role is played by IL-6, as one of the main proinflammatory cytokines that induces C-reactive protein (CRP) and procalcitonin and triggers a cytokine storm. At the same time, the level of IL-6 is considered as a marker of the severity of SARS-

CoV-2 infection, and its correlate ceruloplasmin (CP) is considered as a marker of the severity of SARS-CoV-2 infection, which can act as an antioxidant and prooxidant, as well as an acute phase reactant and increase in inflammation, increase in D-dimers, increase in CRP and decrease in lymphocyte count [12].

CP is a glycoprotein synthesised in the liver (and in small amounts by immune cells, including macrophages and lymphocytes) containing six copper (Cu) atoms, and is a serum ferroxidase responsible for 95% of the transport of Cu in the blood, which acts as a co-factor for enzymes in cellular reactions. On the immunological level, Cu deficiency can lead to a weakening of T-cell responses, immune tolerance and an increase in humoral responses, confirming the presence of immunodeficiency. CP, as an acute-phase protein, can be elevated in infectious diseases, inflammation, tissue damage, trauma, and high levels of estrogen and progesterone (pregnant women and women receiving estrogen therapy or taking oral contraceptives) [12-13].

In addition to transporting Cu, CP is necessary for the outflow of iron from cells. Its absence causes progressive neurodegeneration (iron-induced oxidative stress). Iron efflux from astrocytes is essential for both oligodendrocyte maturation and myelination and myelin integrity in the mature brain. CP is also believed to be involved in the control of membrane lipid oxidation [14].

Scientific research on the importance of CP in the development of immunological changes caused by SARS-CoV-2 and prediction of the severity of COVID-19 is of great interest, but among the scientific publications we studied, we did not find data on the importance of CP in the development of LC.

The aim of the study.

To establish the relationship of serum ceruloplasmin with epidemiological and clinical features in patients with Long COVID in order to predict the course.

Object and methods of research.

The subjects were divided into two groups: the first – patients with Long COVID (n = 35) – with symptoms after COVID-19 for more than 3 months, which lasted for 2 months or more and could not be explained by other causes (study group); the second – clinically and anam-

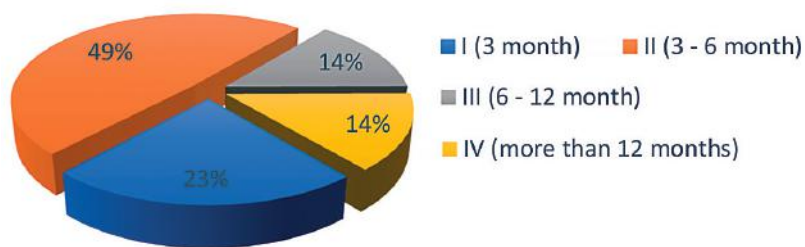


Figure – Distribution of patients with LC into subgroups depending on the time since COVID-19.

nestically healthy persons (n = 42) – had no confirmatory data on COVID-19 (comparison group). According to the criterion of duration after confirmation of COVID-19, patients in the study group were divided into 4 subgroups: I (n = 8) – up to 3 months after COVID-19, II (n = 17) – 3-6 months, III (n = 5) – 6-12 months, IV (n = 5) – more than 12 months.

The exclusion criteria for participation in the study were: age over 60 and under 18, diabetes mellitus, obesity above grade 2 inclusive, hepatitis, autoimmune diseases (rheumatoid arthritis, glomerulonephritis, thyroid disease, rheumatic heart disease, psoriasis, etc.) Apart from osteochondrosis, the patients had no confirmed neurological diagnoses.

The selection for both groups was carried out randomly among people undergoing a routine medical examination at the University Clinic of Sumy State University.

Prior to enrolment in the study, in accordance with the requirements of the Helsinki Declaration, each patient confirmed his or her consent in writing.

All subjects underwent a complete blood count using CobasMicros and Elite 3 analysers, serum ceruloplasmin levels were determined by the turbidimetric method, and the total inflammation index (TII) was calculated:

$TII = TLI + TPI + TSI + TLC + TESR$, where TLI = body temperature \times WBC (white blood cells) / 100; TPI = body temperature \times % of non-segmented neutrophils / 100; TSI = body temperature \times % of segmented neutrophils / 1000; TLC = body temperature \times % of lymphocytes / 1000; TESR = body temperature \times ESR / 1000; [3, 15].

Microsoft Office Excel 2016 spreadsheets were used to collect input data, correct and systematise them. Statistical data processing was performed using the licensed STATA software by StataCorp (Texas, USA).

The Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests were used to determine the normality of the distribution. Student's T-test was used for values that corresponded to normal, Mann-Whitney U-test – as a non-parametric

method of analysis, respectively. The Pearson and Spearman correlation coefficient (two-sided significance test) was used to assess the degree of correlation of the indicators.

The criteria were considered significantly significant at $p < 0.05$. The median (Me), 25th and 75th quartiles were used to describe quantitative indicators.

Research results and their discussion.

The gender distribution in the groups was uneven, with women predominating, but the groups did not differ from each other: the study group (LC) – 59% women and 41% men, the comparison group – 60% and 40%, respectively ($p > 0.05$). Such data on gender distribution are consistent with modern scientific research, regardless of race and continent where the study was conducted [10, 16, 17]. The groups did not differ in age: in the LC group, the average age was 43.20 (34.00-53.00) years, in the comparison group – 38.52 (32.00-45.00) years ($p > 0.05$).

The majority of respondents at the time of the survey had contracted COVID-19 3-6 months ago (49%), which corresponded to the spread of the Omicron strain (figure). The frequency of new LC cases reported increases after reinfection caused by SARS-CoV-2 subvariants of the Omicron family [18, 19]. The high variability of Omicron (especially for subvariants BA.4 and BA.5) and the higher risk of reinfection compared to Beta (B.1.351) and Delta (B.1.617.2) variants cause immunosuppression, regardless of its origin [11, 20].

There was a significant statistical difference in the mean CP values in the group of patients with LC (regardless of subgroup) (47.86 (39.00-50.00) mg/dl) compared with the group of conditionally healthy individuals (23.95 (19.00-29.25) mg/dl). It was 2 times higher ($p < 0.05$).

There was an increase in CP levels in patients with a shorter period after completion of COVID-19, respectively, in subgroup IV it decreased by 45% compared with subgroup I ($p < 0.05$), by 25% with subgroup II ($p < 0.05$), by 10% with subgroup III ($p > 0.05$); in subgroup III it decreased by 39% compared with subgroup I ($p < 0.05$), by 17% with subgroup II ($p < 0.05$); in subgroup II it decreased by 27% compared with subgroup I ($p < 0.05$) (table 1). Direct correlations between serum ceruloplasmin levels and the time of COVID-19 confirmation allow this indicator to be used to predict the course of LC (table 2).

Such results indicate the involvement of CP in the immune response at the level of other proinflammatory

cytokines and their gradual decrease, which correlates with a decrease in the severity of the clinical picture and a decrease in the number of complaints in the long-term period after COVID-19 [2].

Serum CP was statistically significant and directly correlated with leukocyte counts in both groups (6.23 (5.30-7.10) $\times 10^9$ /L in

Table 1 – Changes in serum ceruloplasmin levels depending on the time since COVID-19

Indicator	Patient groups with LC					Comparison group (n=42)
	All (n=35)	I (3 months) (n=8)	II (3-6 months) (n=17)	III (6-12 months) (n=5)	IV (more than 12 months) (n=5)	
Serum CP (mg/dL)	47,86 (39,00-50,00)	63,63 (45,50-81,25)	46,76 (41,00-49,50)	39,00 (34,00-45,50)	35,20 (30,00-42,50)	23,95 (19,00-29,25)
Statistical significance (p)	$p_0 = 0.001^*$	$p_0 = 0.001^*$ $p_2 = 0.054$ $p_3 = 0.016^*$ $p_4 = 0.021^*$	$p_0 = 0.001^*$ $p_1 = 0.054$ $p_3 = 0.099$ $p_4 = 0.010^*$	$p_0 = 0.001^*$ $p_1 = 0.016^*$ $p_2 = 0.099$ $p_4 = 0.681$	$p_0 = 0.006^*$ $p_1 = 0.021^*$ $p_2 = 0.010^*$ $p_3 = 0.681$	$p_1 = 0.001^*$ $p_2 = 0.001^*$ $p_3 = 0.001^*$ $p_4 = 0.006^*$

Notes: p_0 – comparison with a group of conditionally healthy individuals, p_1 – comparison with subgroup I, p_2 – comparison with subgroup II, p_3 – comparison with subgroup III, p_4 – comparison with subgroup IV, * – significant difference by Student/Mann-Whitney test.

the study group and $5.91 (4.95-6.75) \times 10^9 / L$ in the comparison group ($p < 0.01$). TII was directly correlated with CP in all patients (6.87 (6.26-7.45) – in the study group, 6.63 (6.12-7.04) – in the comparison group) ($p < 0.05$) (table 2).

It has been shown that serum CP increases in severe forms of infection caused by SARS-CoV-2 and is a marker of the severity of the disease. There is also a strong association between increased serum CP and increased IL-6 levels [12].

Increased levels of proinflammatory cytokines such as IL-6, IL-7, IL-10, and IL-1B indicate a negative impact on endothelial function and signal the possible development of a cytokine storm [21]. However, decreased levels of Cu and CP were found in patients who did not survive, indicating high immune activity of CP and participation in the antioxidant defence system as a positive acute phase reactant [22].

Immune dysregulation is one of the pathogenetic mechanisms of LC. Changes in T cells have been detected, including their depletion, a decrease in the number of CD4+ and CD8+ memory effector cells, an increase in the number of non-classical monocytes, cytokines, activated B cells, double negative B cells, IL-4- and IL-6-secreting CD4+ T lymphocytes on average 14 months after infection, and elevated levels of IL-1 β , IL-6, and TNF [1]. Thus, serum CP can be used, along with inflammatory indices (TII) and other proinflammatory cytokines, as a biomarker of LC. This indicator can be used to determine the severity of the immune response, predict the duration of clinical symptoms, their number, and complica-

Table 2 – Spearman's correlation (Ro) of serum ceruloplasmin with other parameters

Evaluated Parameters	Long COVID Group (n-35)		Comparison group (n-42)	
	Ro	p	Ro	p
Age	0,013	0,943	-0,025	p=0.874
COVID-19 Confirmation Deadline	-0,611**	0,001	-	
Leukocytes	0,617**	0,001	0,511**	p=0.001
TII	0,468**	0,005	0,395**	p=0.010

Notes: Ro is the Spearman correlation; "-" – reverse; * – significance $p < 0.05$; ** – significance $p < 0.01$.

tions, both at the stage of primary SARS-CoV-2 infection and during LC.

No correlation between CP and age was found in patients with LC ($p > 0.05$) (table 2).

Conclusions.

1. Women aged 43.2 (34 – 53) years are more likely to get Long COVID.

2. Serum ceruloplasmin is involved in the immune response at the level of other cytokines in patients with Long COVID and decreases in the later stages of COVID-19.

3. Serum ceruloplasmin directly correlates with leukocyte count, total inflammation index, and can be used as a biomarker of immune response severity and prediction of the course of Long COVID.

Prospects for further research.

To determine the level of serum ceruloplasmin in more distant periods of Long COVID in order to determine the strength of the correlation with the epidemiological and clinical features of the disease.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-3-174-173-179

УДК 616.98:578.834]-036.22-099-022:612.017:616.152-008.82/.83

Саєнко О. С., Чемич М. Д.

СИРОВАТКОВИЙ ЦЕРУЛОПЛАЗМІН, ЯК ПРОГНОСТИЧНИЙ ПОКАЗНИК ПЕРЕБІГУ LONG COVID

Сумський державний університет (м. Суми, Україна)

o.saienko@kinf.sumdu.edu.ua

Вивчено корелятивні зв'язки рівню сироваткового церулоплазміну у хворих на Long COVID (n – 35) із клініко-епідеміологічними даними та можливість використання показників для прогнозування перебігу хвороби. Групу порівняння склали 42 клініко-анамнестично здорові особи. Розподіл за статтю у групах був нерівномірним, переважали жінки, що відповідало сучасним науковим дослідженням. Більшість респондентів на момент опитування перехворіли на COVID-19 за 3-6 міс. до обстеження (49%), що відповідало поширенню штаму Omicron. Церулоплазмін у пацієнтів із Long COVID (47,86 (39,00-50,00) мг/дл) був вищим у 2 рази за показник у групі порівняння (23,95 (19,00-29,25) мг/дл) ($p < 0,05$). Спостерігалось підвищення рівня церулоплазміну у пацієнтів з коротшим періодом після захворювання на COVID-19, відповідно через 12 міс. та більше він знижувався на 45 % порівняно із 3 міс., на 25% - із 3-6 міс. ($p < 0,05$). Рівень церулоплазміну прямо корелював із кількістю лейкоцитів та сумарним індексом запалення в обох групах ($p < 0,05$), що свідчить про його залучення до імунної відповіді на рівні інших цитокінів у хворих на Long COVID.

Ключові слова: COVID-19, Long COVID, інтоксикація, запалення, імунологія, церулоплазмін, кореляція, прогнозування, здоров'я.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідження було виконано в межах науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Сумського державного університету «Клініко-епідеміологічні особливості перебігу вірусних, бактеріальних та паразитарних інфекцій в залежності

від імунологічних, генетичних та метаболічних факторів, оптимізація діагностичних та лікувальних заходів», номер державної реєстрації 0121U11571.

Вступ.

SARS-CoV-2 – це вірус, що викликає захворювання COVID-19 та спричинив майже 7 млн смертей у всьому світі. Проте, після одужання, у деяких пацієн-

тві тривалий час можуть зберігатися / або з'являтися нові симптоми, сьогодні це відомо, як Long COVID (LC) [1]. Серед симптомів, що зустрічаються частіше це: втома, задишка при фізичному навантаженні, безсоння, нездужання, когнітивні порушення, міалгія, кашель, аносмія, артралгія, біль у грудях, лихоманка, тахікардія [2-4].

Щодо епідеміологічних особливостей, більшість дослідників пов'язують LC із особами жіночої статі, що серед супутніх захворювань мають цукровий діабет, ожиріння, серцево-судинну патологію, а також із підвищеним вірусним навантаженням SARS-CoV-2 та пацієнтами, які мали важку форму COVID-19 [1-5].

Патогенетичні механізми виникнення цих симптомів не є однозначними і виділяється декілька основних теорій: імунологічна дисрегуляція, аутоімунний та імунний праймінг, вплив SARS-CoV-2 на мікробіоту, мікросудинне згортання крові з ендотеліальною дисфункцією і дисфункціональна передача сигналів у стовбурі мозку та/або блукаючому нерві [6-9].

В основі імунологічних відхилень у пацієнтів із LC виявлено зміни Т-клітин, зменшення кількості ефекторних клітин пам'яті CD4+ (що секретують інтерлейкін (IL)-4 та IL-6) і CD8+, підвищену експресію інтерферонів типу I та III (інтерферон- β (IFN β) та IFN λ 1), збільшення кількості моноцитів, активованих В-клітин, підвищені рівні цитокінів (зокрема IL-1 β , IL-6, фактора некрозу пухлин (TNF)) [8-11]. Особлива роль приділяється IL-6, як одному із основних прозапальних цитокінів, що індукуює С-реактивний протеїн (CRP) і прокальцитонін та індукуює цитокіновий шторм. Водночас, на рівні IL-6, як маркера тяжкості інфекції, спричиненої SARS-CoV-2, розглядається корелюючий з ним церулоплазмін (СР), що може діяти як антиоксидант, так і прооксидант, також як реагент гострої фази та підвищуватися при запаленні, збільшенні D-димерів, підвищенні CRP і зниженні кількості лімфоцитів [12].

СР – глікопротеїн, що синтезується у печінці (у невеликих кількостях – імунними клітинами, у тому числі макрофагами та лімфоцитами) та містить шість атомів міді (Cu) у своєму складі, є сироватковою фероксидазою, відповідальною за 95% транспортування Cu у крові, яка діє як ко-фактор для ферментів у клітинних реакціях. На імунологічному рівні дефіцит Cu може спричинити послаблення відповіді Т-клітин, імунну толерантність і посилення гуморальної відповіді, підтверджуючи наявність імунодефіциту. СР, як гострофазовий білок, може підвищуватися при інфекційних захворюваннях, запаленнях, пошкодженні тканин, травмах, а також при високому рівні естрогену та прогестерону (вагітні та жінки, які отримують терапію естрогенами чи приймають оральні контрацептиви) [12-13].

Окрім транспортування Cu, СР необхідний для відтоку заліза з клітин. Його відсутність спричинює прогресуючу нейродегенерацію (індукований залізом окислювальний стрес). Вихід заліза із астроцитів є обов'язковим як для дозрівання та мієлінізації олігодендроцитів, так і цілісності мієліну у зрілому мозку. Також вважається, що СР бере участь у контролі окислення ліпідів мембран [14].

Наукові дослідження щодо значення СР у розвитку імунологічних змін спричинених SARS-CoV-2 та

прогнозування тяжкості перебігу COVID-19 викликають неабиякий інтерес, проте серед вивчених нами наукових публікацій не було виявлено даних про значення СР у розвитку LC.

Мета дослідження.

Встановити взаємозв'язок сироваткового церулоплазміну із епідеміологічними та клінічними особливостями у хворих на Long COVID з метою прогнозування перебігу.

Об'єкт і методи дослідження.

Обстежених було поділено на дві групи: перша – хворі на Long COVID (n – 35) – із симптомами після завершення COVID-19 понад 3 міс., які тривають протягом 2 міс. та більше і не можуть бути пояснені іншими причинами (досліджувана група); друга – клініко-анамнестично здорові особи (n – 42) – не мали підтверджуючих даних про COVID-19 (група порівняння). За критерієм тривалості після підтвердження захворювання на COVID-19 пацієнтів групи дослідження було поділено на 4 підгрупи: I (n – 8) – до 3 міс. після COVID-19, II (n – 17) – 3-6 міс., III (n – 5) – 6-12 міс., IV (n – 5) – більше 12 міс.

Критеріями вилучення для участі у дослідженні були: вік старше 60 років та молодше 18, цукровий діабет, ожиріння вище 2 ступеня включно, гепатит, аутоімунні захворювання (ревматоїдний артрит, гломерулонефрит, захворювання щитоподібної залози, ревматична хвороба серця, псоріаз тощо). Окрім остеохондрозу у пацієнтів не було підтверджених неврологічних діагнозів.

Відбір для обох груп проводився рандомно серед осіб, що проходили плановий медичний огляд в Університетській клініці Сумського державного університету.

Перед залученням у дослідження кожен пацієнт давав письмову інформовану згоду, що відповідає вимогам Гельсінської декларації.

Усім досліджуваним проводився загальний аналіз крові з використанням аналізаторів CobasMicros та Elite 3, визначення рівня церулоплазміну сироватки крові турбодиметричним методом, а також обраховувався сумарний індекс запалення (СІЗ):

$СІЗ = ТЛІ + ТПІ + ТСІ + ТЛК + ТШОЕ$, де ТЛІ = температура тіла \times кількість лейкоцитів / 100; ТПІ = температура тіла \times % несегментоядерних нейтрофілів / 100; ТСІ = температура тіла \times % сегментоядерних нейтрофілів / 1000; ТЛК = температура тіла \times % лімфоцитів / 1000; ТШОЕ = температура тіла \times ШОЕ / 1000; [3, 15].

Електронні таблиці Microsoft Office Excel 2016 використовувалися для збору вхідних даних, їх корекції та систематизації. Статистична обробка даних проводилася за допомогою ліцензійованого програмного забезпечення STATA компанії StataCorp (Texas, USA).

Під час статистичної обробки даних для визначення нормальності розподілу використовувалися критерії Колмогорова-Смірнова та Шапіро-Уїлка. Т-критерій Стьюдента використовувався для величин що відповідали нормальному, U-критерій Манна-Уїтні – як непараметричний метод аналізу відповідно. Для оцінки ступеня кореляції показників використовували коефіцієнт кореляції Пірсона та Спірмена (двосторонній критерій значимості).

Критерії були визнані достовірно значущими при $p < 0,05$. Медіана (Me), 25-й і 75-й квартилі використовувалися для опису кількісних показників.

Результати досліджень та їх обговорення.

Розподіл за статтю у групах був нерівномірним, переважали жінки, проте між собою групи не відрізнялися: досліджувана група (LC) – 59% жінок і 41% чоловіків, група порівняння – 60% і 40% відповідно (p>0,05). Такі дані за гендерним розподілом відповідають сучасним науковим дослідженням, незалежно від расової приналежності та континенту де проводилося дослідження [10, 16, 17]. За віком групи між собою не відрізнялися: у групі з LC середній вік – 43,20 (34,00-53,00) року, у групі порівняння – 38,52 (32,00-45,00) року (p>0,05).

Більшість респондентів на момент опитування перехворіли на COVID-19 3-6 міс. тому (49%), що відповідало поширенню штаму Omicron (рисунк). Частота повідомлень про нові випадки LC зростає після повторного інфікування, спричиненого субваріантами SARS-CoV-2 родини Omicron [18, 19]. Висока варіабельність Omicron (особливо для підваріантів BA.4 і BA.5) і вищий ризик повторного зараження порівняно з варіантами Beta (B.1.351) і Delta (B.1.617.2) викликають імуносупресію, незалежно від її походження [11, 20].

Встановлено достовірну статистичну різницю середніх показників СР у групі пацієнтів з LC (незалежно від підгрупи) (47,86 (39,00-50,00) мг/дл) порівняно з групою умовно здорових осіб (23,95 (19,00-29,25) мг/дл). Він був вищим у 2 рази (p<0,05).

Спостерігалось підвищення рівня СР у пацієнтів з коротшим періодом після завершення COVID-19, відповідно у підгрупі IV він знижувався на 45% порівняно із I підгрупою (p<0,05), на 25% із II підгрупою (p<0,05), на 10% із III підгрупою (p>0,05); у підгрупі III знижувався на 39% порівняно із I підгрупою (p<0,05), на 17% із II підгрупою (p>0,05); у підгрупі II знижувався на 27% порівняно із I підгрупою (p>0,05) (табл. 1). Прямі корелятивні зв'язки рівня сироваткового церулоплазміну з терміном підтвердження COVID-19 дозволяють використати даний показник з метою прогнозування перебігу LC (табл. 2).

Такі результати свідчать про залучення СР до імунної відповіді на рівні інших прозапальних цитокінів та їх поступове зниження, яке корелює зі зниженням виразності клінічної картини та скороченням кількості скарг у віддаленому періоді після COVID-19 [2].

Сироватковий СР був статистично значущим і прямо корелював із рівнем лейкоцитів у обох групах (6,23 (5,30-7,10) ×10⁹ /л – у досліджуваній групі та 5,91

(4,95-6,75) ×10⁹ /л у групі порівняння) (p<0,01). СІЗ прямо корелював із СР у всіх пацієнтів (6,87 (6,26-7,45) – у досліджуваній групі, 6,63 (6,12-7,04) – у групі порівняння) (p<0,05) (табл. 2).

Досліджено, що сироватковий СР підвищується при важких формах інфекції, спричиненої SARS-CoV-2, та є маркером тяжкості перебігу хвороби. Також існує сильний зв'язок між підвищенням СР в сироватці крові та підвищенням рівня ІЛ-6 [12].

Підвищення рівня прозапальних цитокінів, таких як ІЛ-6, ІЛ-7, ІЛ-10 та ІЛ-1В свідчать про негативний вплив на функцію ендотелію та сигналізують про можливий розвиток цитокінового шторму [21]. Проте знижений рівень С_и та СР були виявлені у пацієнтів, що не вижили, що свідчить про високу імунну активність СР та участь у системі антиоксидантного захисту, як позитивного реагенту гострої фази [22].

Імунна дисрегуляція є одним із патогенетичних механізмів LC. Виявлено зміни у Т-клітинах, зокрема їх виснаження, зменшення кількості CD4+ і CD8+ ефекторних клітин пам'яті, збільшення кількості не-класичних моноцитів, цитокінів, активованих В-клітин, подвійних негативних В-клітин, ІЛ-4- та ІЛ-6-секретуючих CD4+ Т-лімфоцитів у середньому через 14 місяців після інфікування, підвищені рівні ІЛ-1β, ІЛ-6,

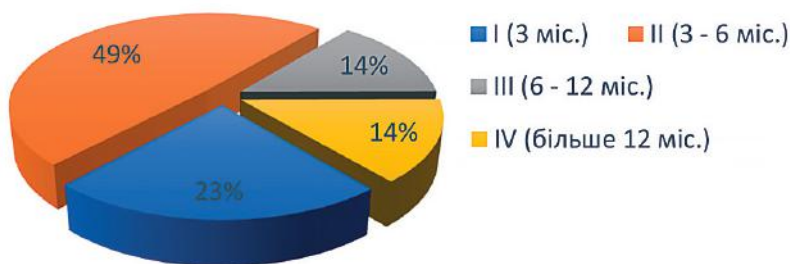


Рисунок – Розподіл пацієнтів з LC на підгрупи залежно від терміну з моменту захворювання на COVID-19.

Таблиця 1 – Зміни рівня сироваткового церулоплазміну залежно від терміну з моменту захворювання на COVID-19

Показник	Групи пацієнтів із LC					Група порівняння (n=42)
	Усі (n=35)	I (3 міс.) (n=8)	II (3-6 міс.) (n=17)	III (6-12 міс.) (n=5)	IV (більше 12 міс.) (n=5)	
Сироватковий СР (мг/дл)	47,86 (39,00-50,00)	63,63 (45,50-81,25)	46,76 (41,00-49,50)	39,00 (34,00-45,50)	35,20 (30,00-42,50)	23,95 (19,00-29,25)
Статистична значимість (p)	p0=0.001*	p0=0.001* p2=0.054 p3=0.016* p4=0.021*	p0=0.001* p1=0.054	p0=0.001* p1=0.016* p2=0.099	p0=0.006* p1=0.021* p2=0.010* p3=0.681	p1=0.001* p2=0.001* p3=0.001* p4=0.006*

Примітки: p0 – порівняння із групою умовно здорових осіб, p1 – порівняння із I підгрупою, p2 – порівняння із II підгрупою, p3 – порівняння із III підгрупою, p4 – порівняння із IV підгрупою, * – достовірна різниця за критерієм Стьюдента (при нормальному розподілі) / Мана-Уїтні (при розподілі, що не відповідав нормальному).

Таблиця 2 – Кореляція Спірмена (Ro) сироваткового церулоплазміну із іншими показниками

Оцінені параметри	Група з Long COVID (n=35)		Група порівняння (n=42)	
	Ro	p	Ro	p
Вік	0,013	0,943	-0,025	p=0.874
Термін підтвердження COVID-19	-0,611**	0,001	-	
Лейкоцити	0,617**	0,001	0,511**	p=0.001
СІЗ	0,468**	0,005	0,395**	p=0.010

Примітки: Ro – кореляція по Спірмену; «-» – зворотна; * – значимість p<0,05; ** – значимість p<0,01.

TNF [1]. Таким чином, сироватковий СР можна використовувати на рівні інших прозапальних цитокінів та індексів запалення (СІЗ), як біомаркер перебігу LC. Для визначення виразності імунної відповіді, прогнозування тривалості клінічних симптомів, їх кількості, ускладнень, даний показник може бути використаний як на етапі первинного інфікування SARS-CoV-2 так і в період LC.

Не було виявлено корелятивних зв'язків СР із віком у хворих на LC ($p > 0,05$) (табл. 2).

Висновки.

1. На Long COVID хворіють частіше жінки у віці 43,2 (34 – 53) року.

2. Сироватковий церулоплазмін залучається до імунної відповіді на рівні інших цитокінів у хворих на Long COVID та знижується у пізніші терміни після COVID-19.

3. Сироватковий церулоплазмін прямо корелює із рівнем лейкоцитів, сумарним індексом запалення, може використовуватися як біомаркер виразності імунної відповіді та прогнозування перебігу Long COVID.

Перспективи подальших досліджень.

Визначення рівня сироваткового церулоплазміну у більш віддалені періоди Long COVID з метою визначення міцності кореляції із епідеміологічними та клінічними особливостями перебігу недуги.

References / Література

- Klein J, Wood J, Jaycox JR, Dhodapkar RM, Lu P, Gehlhausen JR, et al. Distinguishing features of long COVID identified through immune profiling. *Nature*. 2023;623(7985):139-148. DOI: [10.1038/s41586-023-06651-y](https://doi.org/10.1038/s41586-023-06651-y).
- The Lancet. Long COVID: 3 years in. *Lancet*. 2023;401(10379):795. DOI: [10.1016/S0140-6736\(23\)00493-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00493-2).
- Saienko O, Chemych M. Changes in indicators of endogenous intoxication, nonspecific reactivity, and inflammation caused by SARS-CoV-2. *East. Ukr. Med. J.* 2024;12(2):422-30. Available from: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/422-430>.
- Svitailo V, Chemych M. Clinical and epidemiological characteristics of Long-COVID development patterns in patients of different age groups. *East. Ukr. Med. J.* 2024;12(2):431-40. Available from: <https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/553>.
- Negrut N, Menegas G, Kampioti S, Bourelou M, Kopanyi F, Hassan FD, et al. The Multisystem Impact of Long COVID: A Comprehensive Review. *Diagnostics*. 2024;14:244. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics14030244>.
- Davis HE, McCorkell L, Vogel JM, Topol EJ. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21:133-146. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00846-2>.
- Svitailo VS, Chemych MD, Saienko OS. Long-COVID та asotsiyovani urazhennya sertsevo-sudynnoyi ta nervovoyi system. *Infektsiyni khvoroby*. 2023;14(4):49-54. DOI: <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2022.4.13701>. [in Ukrainian].
- Saienko O, Chemych M, Svitailo V. Long-COVID, neurological and cardiovascular disorders. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;13(3):381-393. DOI: <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.03.048>.
- Leng A, Shah M, Ahmad SA, Premraj L, Wildi K, Li Bassi G, et al. Pathogenesis Underlying Neurological Manifestations of Long COVID Syndrome and Potential Therapeutics. *Cells*. 2023;12(5):816. DOI: [10.3390/cells12050816](https://doi.org/10.3390/cells12050816).
- Yin K, Peluso MJ, Luo X, Thomas R, Shin MG, Neideman J, et al. Long COVID manifests with T cell dysregulation, inflammation, and an uncoordinated adaptive immune response to SARS-CoV-2. Preprint. *bioRxiv*. 2023. DOI: [10.1101/2023.02.09.527892](https://doi.org/10.1101/2023.02.09.527892).
- Boufidou F, Medić S, Lampropoulou V, Siafakas N, Tsakris A, Anastassopoulou C. SARS-CoV-2 Reinfections and Long COVID in the Post-Omicron Phase of the Pandemic. *Int J Mol Sci*. 2023;24(16):12962. DOI: [10.3390/ijms241612962](https://doi.org/10.3390/ijms241612962).
- Reşteia P-A, Ţigan Ş, Vicaş LG, Fritea L, Marian E, Jurca T, et al. Serum Level of Ceruloplasmin, Angiotensin-Converting Enzyme and Transferrin as Markers of Severity in SARS-CoV-2 Infection in Patients with Type 2 Diabetes. *Microbiol. Res*. 2023;14:1670-1686. DOI: <https://doi.org/10.3390/microbiolres14040115>.
- Lopez MJ, Royer A, Shah NJ. *Biochemistry, Ceruloplasmin*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- Cheli VT, Sekhar M, Santiago González DA, Angeliu CG, Denaroso GE, Smith Z, et al. The expression of ceruloplasmin in astrocytes is essential for postnatal myelination and myelin maintenance in the adult brain. *Glia*. 2023;71(10):2323-2342. DOI: [10.1002/glia.24424](https://doi.org/10.1002/glia.24424).
- Chemych MD, Lishnevska AG. The role of galectin-9 in patients with chronic viral hepatitis C and its connection with the type of therapy, the degree of fibrosis, clinical, laboratory, autoimmune and integrative indicators. *Wiad Lek*. 2021;74(5):1180-1188.
- Au L, Capotescu C, Curi A, Gonçalves Leonel da Silva R, Eyal G. Long Covid requires a global response centred on equity and dialogue. *Glob Health Action*. 2023;16(1):2244757. DOI: [10.1080/16549716.2023.2244757](https://doi.org/10.1080/16549716.2023.2244757).
- Ruiyin W, Qi J, Tingting W, Yuqin Y, Yan J, Kun P. Long COVID outcomes following omicron wave in non-hospital population. *Front Public Health*. 2024;12:1377866. DOI: [10.3389/fpubh.2024.1377866](https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1377866).
- Hadley E, Yoo YJ, Patel S, Zhou A, Laraway B, Wong R, et al. N3C and RECOVER consortia. SARS-CoV-2 Reinfection is Preceded by Unique Biomarkers and Related to Initial Infection Timing and Severity: An N3C RECOVER EHR-Based Cohort Study. *medRxiv*. 2023. DOI: [10.1101/2023.01.03.22284042](https://doi.org/10.1101/2023.01.03.22284042).
- Fernández-De-Las-Peñas C, Notarte KI, Peligro PJ, Velasco JV, Ocampo MJ, Henry BM, et al. Long-COVID Symptoms in Individuals Infected with Different SARS-CoV-2 Variants of Concern: A Systematic Review of the Literature. *Viruses*. 2022;14:2629. DOI: [10.3390/v14122629](https://doi.org/10.3390/v14122629).
- Yang C, Zhao H, Shannon CP, Tebbutt SJ. Omicron variants of SARS-CoV-2 and long COVID. *Front. Immunol*. 2022;13:1061686. DOI: [10.3389/fimmu.2022.1061686](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1061686).
- Jain V, Kumar P, Panda PK, Suresh M, Kaushal K, Mirza AA, et al. Utility of IL-6 in the Diagnosis, Treatment and Prognosis of COVID-19 Patients: A Longitudinal Study. *Vaccines*. 2022;10(11):1786. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines10111786>.
- Hackler J, Heller RA, Sun Q, Schwarzer M, Diegmann J, Bachmann M, et al. Relation of Serum Copper Status to Survival in COVID-19. *Nutrients*. 2021;3:1898. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13061898>.

СИРОВАТКОВИЙ церулоплазмін як прогностичний показник перебігу Long COVID

Саєнко О. С., Чемич М. Д.

Резюме. Збереження скарг чи виникнення нових після COVID-19 наразі усім відома недуга, як Long COVID. Проте, ще не існує єдиного підтвердженого патогенетичного механізму виникнення цих симптомів. В основі імунологічних змін у відповідь на вірусне навантаження SARS-CoV-2 є зміни у Т-клітинах, зниження CD4+ і CD8+, підвищення експресії інтерферонів типу I та III, збільшення кількості моноцитів, підвищені рівні цитокінів, церулоплазміну.

Об'єкт і методи дослідження. Обстежених було поділено на дві групи: хворі на Long COVID (n – 35) та клініко-анамнестично здорові особи (n – 42). Усім досліджуваним проводився загальний аналіз крові, визначення рівня церулоплазміну сироватки крові турбодиметричним методом, а також обраховувався сумарний індекс запалення. Під час статистичної обробки даних критерії були визнані достовірно значущими при $p < 0,05$. Медіана (Me), 25-й і 75-й квартилі використовувалися для опису кількісних показників.

Результати. Розподіл за статтю у групах був нерівномірним, переважали жінки. Більшість респондентів на момент опитування переохворіли на COVID-19 3-6 міс. тому (49%), що відповідало поширенню штаму Omicron. Церулоплазмін у групі пацієнтів хворих на Long COVID (47,86 (39,00-50,00) мг/дл) у 2 рази перевищував відповідний показник порівняно з групою умовно здорових осіб (23,95 (19,00-29,25) мг/дл) ($p < 0,05$). Спостережалося підвищення рівня церулоплазміну у пацієнтів з коротшим періодом після захворювання на COVID-19, відповідно через 12 міс. та більше він знижувався на 45% порівняно із 3 міс., на 25% – із 3-6 міс. ($p < 0,05$). Рівень церулоплазміну прямо корелював із кількістю лейкоцитів та сумарним індексом запалення в обох групах ($p < 0,05$).

Висновки. Сироватковий церулоплазмін залучається до імунної відповіді на рівні інших цитокінів у хворих на Long COVID, вміст його прямо корелює із рівнем лейкоцитів, сумарним індексом запалення та знижується у пізніші терміни після COVID-19.

Ключові слова: COVID-19, Long COVID, інтоксикація, запалення, імунологія, церулоплазмін, кореляція, прогнозування, здоров'я.

SERUM ceruloplasmin as a prognostic indicator of Long COVID

Saienko O. S., Chemych M. D.

Abstract. The persistence of complaints or the emergence of new ones after COVID-19 is now known as Long COVID. However, there is no single confirmed pathogenetic mechanism for these symptoms. The immunological changes in response to SARS-CoV-2 viral load are based on changes in T cells, decreased CD4+ and CD8+, increased expression of type I and type III interferons, increased monocyte count, elevated levels of cytokines, and ceruloplasmin.

Object and methods of research. The subjects were divided into two groups: patients with Long COVID ($n = 35$) and clinically and anamnesticly healthy individuals ($n = 42$). All subjects underwent a complete blood count, serum ceruloplasmin level by turbidimetric method, and a total inflammation index was calculated. During the statistical processing of the data, the criteria were considered significantly significant at $p < 0.05$. The median (Me), 25th and 75th quartiles were used to describe quantitative indicators.

Results. The gender distribution in the groups was uneven, with a predominance of women. The majority of respondents at the time of the survey had been ill with COVID-19 3-6 months ago (49%), which corresponded to the spread of the Omicron strain. Ceruloplasmin in the group of patients with Long COVID (47.86 (39.00-50.00) mg/dl) was 2 times higher compared to the group of conditionally healthy individuals (23.95 (19.00-29.25) mg/dl) ($p < 0.05$). An increase in ceruloplasmin levels was observed in patients with a shorter period after COVID-19 disease, respectively, after 12 months or more it decreased by 45% compared with 3 months, by 25% – from 3 to 6 months ($p < 0.05$), Ceruloplasmin levels were directly correlated with the number of leukocytes and total inflammation index in both groups ($p < 0.05$).

Conclusions. Serum ceruloplasmin is involved in the immune response at the level of other cytokines in patients with Long COVID, its content directly correlates with the level of leukocytes, total inflammation index and decreases in the later stages after COVID-19.

Key words: COVID-19, Long COVID, intoxication, inflammation, immunology, ceruloplasmin, correlation, prediction, health.

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Saienko O. S.: <https://orcid.org/0000-0003-2328-6606>^{ABCDE}

Chemych M. D.: <https://orcid.org/0000-0002-7085-5448>^{ABCDEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm that they have no conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Saienko Oleksandr Serhiyovych / Саєнко Олександр Сергійович

Sumy State University / Сумський державний університет

Адреса: Україна, 40007, м. Суми, вул. Харківська 116 / Ukraine, 40007, Sumy, 116 Kharkivska str.

Tel.: +380950064003 / Tel.: +380950064003

E-mail: o.saienko@kinf.sumdu.edu.ua

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 12.03.2024 / Стаття надійшла 12.03.2024 року
Accepted 20.08.2024 / Стаття прийнята до друку 20.08.2024 року