

Ocena związku między czynnością wewnątrzwydzielniczą mięśni szkieletowych i tkanki tłuszczowej a przebiegiem stanu zapalnego u chorych na COVID-19

Streszczenie

Wstęp:

Przyczyną COVID-19 jest infekcja wywołana przez SARS-CoV-2, jednak niewyjaśnione pozostaje zagadnienie różnego przebiegu zakażenia u poszczególnych chorych. Na przebieg procesu zapalnego w przebiegu infekcji wywołanej przez SARS-CoV-2 może mieć wpływ czynność wewnątrzwydzielnicza mięśni szkieletowych i tkanki tłuszczowej. Spośród miokina, iryzyna i miostatyna wykazują działanie prozapalne, a spośród adypokina, adyponektyna wykazuje działanie przeciwzapalne, a rezystyna – prozapalne. Nie było dotąd badań analizujących związek stężenia jednocześnie tych czterech hormonów z nasileniem stanu zapalnego i z ciężkością przebiegu COVID-19 i oceniających dynamikę zmian ich stężeń w czasie leczenia szpitalnego.

Celem pracy była odpowiedź na następujące pytania:

1. Czy u chorych na COVID-19 istnieje związek między czynnością wewnątrzwydzielniczą mięśni i tkanki tłuszczowej a nasileniem stanu zapalnego?
2. Czy w czasie leczenia chorych na COVID-19 zmienia się czynność wewnątrzwydzielnicza mięśni i tkanki tłuszczowej?
3. Czy na podstawie stężeń wybranych miokina i adypokina można przewidywać przebieg COVID-19?

Material i metody:

Badaniem objęto 99 chorych (w tym 46 kobiet) w wieku średnio $62,4 \pm 17$ lat, przyjętych na oddział pulmonologiczny Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu przeznaczony dla chorych na COVID-19, od 03.01.2020 roku do 25.05.2021 roku. U wszystkich chorych zakażenie SARS-CoV-2 potwierdzono badaniem wymazu z nosogardzieli metodą RT-PCR.

W analizie związku między stężeniami miokiny i adypokiny a ciężkością COVID-19 uwzględniano takie parametry, jak ocena stanu ogólnego chorych w skali 4-punktowej, rozległość zmian w obrazie radiologicznym klatki piersiowej w 8-punktowej skali RALE oraz utlenowanie krwi tętniczej na podstawie wskaźników $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (na początku hospitalizacji) i $\text{SaO}_2/\text{FiO}_2$ (w trakcie hospitalizacji).

W analizie nasilenia stanu zapalnego u chorych na COVID-19 posłużono się wskaźnikami biochemicznymi, takimi jak MMP-9, ferrytyna, białko S100B, CRP i D-dimery, oraz wskaźnikami obliczanymi na podstawie morfologii krwi, takimi jak NLR (*neutrophil/lymphocyte ratio*) – stosunek liczby granulocytów obojętnochłonnych do liczby limfocytów, PLR (*platelet/lymphocyte ratio*) – stosunek liczby płytek krwi do liczby limfocytów i SII (*systemic inflammation index*) – wskaźnik uogólnionego zapalenia, tj. stosunek ilorazu liczby płytek i liczby granulocytów obojętnochłonnych do liczby limfocytów. Miokiny, adypokiny, i wskaźniki stanu zapalnego, takie jak MMP-9, ferrytyna, białko S100B, NLR, PLR i SII oznaczano za początku hospitalizacji oraz przed wypisem chorych z oddziału dla chorych na COVID-19 lub przed zgonem, a wskaźniki stanu zapalnego, takie jak CRP i D-dimery – także w czasie hospitalizacji, wybierając do analizy ich największą wartość.

Biorąc pod uwagę wskazania do tlenoterapii i konieczność wyboru metody tlenoterapii i/lub zastosowania nieinwazyjnej wentylacji mechanicznej wyniki badań analizowano w trzech grupach: chorych niewymagających tlenoterapii (przebieg łagodny) chorych, wymagających podawania tlenu w niedużych dawkach, tj. przez kaniulę nosową lub przez maskę prostą (przebieg ciężki) i chorych wymagających podawania tlenu w dużych dawkach, tj. przez maskę z rezerwuarem lub metodą tlenoterapii wysokoprzepływową lub wymagających nieinwazyjnej wentylacji mechanicznej (przebieg krytyczny).

Rozkład cech ilościowych badano testem Kołmogorowa-Smirnowa, różnice rozkładu cech jakościowych testem test Fishera oraz Chi-kwadrat, różnice pomiędzy dwoma cechami porównywano testem t-Studenta lub testem Manna Whitneya. W przypadku porównywania więcej niż dwóch cech, użyto testu ANOVA lub testu Kruskala-Wallisa z testem wielokrotnych porównań Dunna. Korelacje badano testem Pearsona lub Spearmana. Prawdopodobieństwo progresji choroby oraz zgonu oceniono jedno- i wieloczynnikową analizą COXa.

Wyniki:

Stężenie iryzyny wynosiło średnio $2,98 \pm 2,23$ $\mu\text{g/ml}$ i korelowało dodatnio z wartościami wykładników stanu zapalnego, takimi jak MMP-9, ferrytyna, NLR, PLR, SII, CRP i najwyższe stężenie D-dimerów. Im cięższy był stan ogólny chorych przy przyjęciu do szpitala i im rozleglejsze były zmiany w obrazie radiologicznym klatki piersiowej tym większe było stężenie iryzyny; w dalszej obserwacji chorych początkowe wysokie stężenie iryzyny ujemnie korelowało z najmniejszym oraz z końcowym utlenowaniem krwi tętniczej. W grupie chorych z krytycznym przebiegiem choroby stężenie iryzyny było wyższe niż u chorych z przebiegiem ciężkim ($p < 0,0001$) i łagodnym ($p < 0,0001$). Stężenie iryzyny powyżej mediany stanowiło niezależny czynnik ryzyka progresji do stanu krytycznego ($p < 0,05$). Stężenie iryzyny powyżej mediany stanowiło czynnik ryzyka zgonu ($p < 0,05$), jednak nie był to czynnik niezależny. U 92% chorych, u których oznaczono stężenie iryzyny na końcu hospitalizacji, nastąpił spadek jej stężenia, a u pozostałych 8% chorych stężenie iryzyny wzrosło. Nie stwierdzono istotnych różnic między tymi grupami pod względem rozległości zmian zapalnych w obrazie radiologicznym, utlenowania krwi tętniczej, ciężkości przebiegu klinicznego lub nasilenia stanu zapalnego.

Średnie stężenie miostatyny wynosiło $10,2 \pm 9,35$ ng/ml i korelowało dodatnio ze stężeniem ferrytyny i maksymalnym stężeniem D-dimerów. U pacjentów z krytycznym przebiegiem choroby stężenie miostatyny było większe niż u chorych z przebiegiem ciężkim ($p < 0,01$). Jej stężenie korelowało ujemnie z utlenowaniem krwi tętniczej pod koniec leczenia. Stężenie miostatyny powyżej mediany stanowiło czynnik ryzyka przebiegu krytycznego ($p < 0,05$), ale nie był to czynnik niezależny. U 49% chorych doszło do wzrostu, a u 51% do spadku jej stężenia; chorzy, u których w czasie hospitalizacji obniżało się stężenie miostatyny mieli przy przyjęciu wyższe wartości NLR, PLR, SII.

Średnie stężenie adyponektyny wynosiło 27915 ± 10783 ng/ml . Początkowe stężenie adyponektyny ujemnie korelowało ze stężeniami ferrytyny. Stężenie adyponektyny powyżej trzeciego kwartyla było niezależnym czynnikiem zmniejszającym ryzyko progresji COVID-19 do stanu krytycznego ($p < 0,05$). U 56% chorych dochodziło do wzrostu i u 44% do spadku jej stężenia. Chorzy, u których w czasie hospitalizacji dochodziło do spadku stężenia adyponektyny mieli wyższe wskaźniki stanu zapalnego, takie jak NLR, PLR i SII, niż chorzy u których następował wzrost jej stężenia. Końcowe stężenie adyponektyny było większe u chorych z chorobami sercowo-naczyniowymi niż u chorych bez takich obciążeń.

Średnie stężenie rezystyny wynosiło $808,04 \pm 706$ pg/ml i korelowało dodatnio ze stężeniami MMP-9, ferrytyny, CRP, najwyższym stężeniem D-dimerów oraz z NLR i SII. Stężenie rezystyny było większe u pacjentów z krytycznym przebiegiem choroby niż u pacjentów z przebiegiem ciężkim ($p < 0,05$) i łagodnym ($p < 0,0001$), a także większe u pacjentów z przebiegiem ciężkim niż łagodnym ($p < 0,05$). Stężenie rezystyny przekraczające medianę było czynnikiem ryzyka progresji do krytycznego przebiegu choroby ($p < 0,05$), chociaż nie jako czynnik niezależny. U 69% chorych nastąpił spadek, a u 31% chorych wzrost stężenia rezystyny; nie stwierdzono istotnych różnic między tymi grupami pod względem rozległości zmian radiologicznych, utlenowania krwi tętniczej, ciężkości przebiegu klinicznego i nasilenia stanu zapalnego.

Wnioski:

1. Mięśnie poprzecznie prążkowane i tkanka tłuszczowa biorą udział w odpowiedzi organizmu na zakażenie wywołane przez SARS-CoV-2.
2. U chorych na COVID-19 zwiększone stężenie iryzyny odzwierciedla większe nasilenie stanu zapalnego, rozleglejsze zmiany zapalne w płucach i większe zaburzenia utlenowania krwi tętniczej, pozwala przewidywać krytyczny przebieg choroby i zwiększone ryzyko zgonu; u większości chorych jej stężenie zmniejsza się w trakcie leczenia.
3. U chorych na COVID-19 zwiększone stężenie miostatyny odzwierciedla większe nasilenie stanu zapalnego i pozwala przewidywać krytyczny przebieg choroby; stężenie miostatyny obniża się lub wzrasta w trakcie leczenia.
4. U chorych na COVID-19 zwiększone stężenie adyponektyny odzwierciedla większe nasilenie stanu zapalnego i chroni przed progresją choroby do stanu krytycznego; stężenie adyponektyny obniża się lub wzrasta w trakcie leczenia.
5. U chorych na COVID-19 zwiększone stężenie rezystyny odzwierciedla większe nasilenie stanu zapalnego i sprzyja progresji choroby do stanu krytycznego; u większości chorych jej stężenie zmniejsza się w trakcie leczenia.

Assessment of the link between skeletal muscle and adipose tissue endocrine function and the course of inflammation in patients with COVID-19

Abstract

Introduction:

COVID-19 is attributed to an infection caused by SARS-CoV-2, yet the heterogeneous clinical course observed among patients remains poorly understood. The endocrine activity of skeletal muscle and adipose tissue may exert an influence on the inflammatory response during SARS-CoV-2 infection. Within the class of myokines, irisin and myostatin exhibit pro-inflammatory properties, while among adipokines, adiponectin demonstrates anti-inflammatory effects and resistin exerts pro-inflammatory effects. However, investigations assessing the association between the concentrations of these four hormones and the severity of inflammation, as well as the progression of COVID-19, along with the dynamics of their concentration alterations during hospital treatment, have not been conducted thus far.

The objectives of this study were as follows:

1. To investigate the potential association between the endocrine activity of muscles and adipose tissue, and the severity of inflammation in patients with COVID-19.
2. To assess any changes in the endocrine activity of muscles and adipose tissue during the treatment of patients with COVID-19.
3. To determine whether the concentrations of specific myokines and adipokines can serve as predictive markers for the course of COVID-19.

Materials and Methods:

A total of 99 patients (including 46 women) with a mean age of 62.4 ± 17 years were included in the study. These patients were admitted to the Pulmonology Department of the Lower Silesian Centre of Lung Diseases in Wrocław, which was designated for COVID-19 patients treatment. The study period ranged from 3.01.2020, to 25.05.2021. The confirmation of SARS-CoV-2 infection in all patients was established through RT-PCR testing of nasopharyngeal swabs.

The analysis aimed to investigate the relationship between concentrations of myokines and adipokines and the severity of COVID-19. Several parameters were taken into consideration, including the initial general condition of patients rated on a 4-point scale, changes observed in chest radiographic imaging assessed using an 8-point RALE scale, as well as arterial blood oxygenation measured by PaO₂/FiO₂ upon admission and SaO₂/FiO₂ during hospitalization.

To assess the severity of inflammation in COVID-19 patients, several biochemical markers were utilized, such as MMP-9, ferritin, S100B protein, CRP, and D-dimers. Additionally, indicators derived from blood morphology, including neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), platelet/lymphocyte ratio (PLR), and systemic inflammation index (SII), were taken into consideration. Concentrations of myokines, adipokines, and inflammatory markers (MMP-9, ferritin, S100B protein, NLR, PLR, and SII) were measured upon admission and prior to discharge or death. Inflammatory markers like CRP and D-dimers were also measured during hospitalization, with the highest value selected for analysis.

The distribution of quantitative features was examined using the Kolmogorov-Smirnov test, while the differences in the distribution of qualitative features were assessed using the Fisher's exact test and the Chi-square test. The differences between two features were compared using the Student's t-test or the Mann-Whitney U test. For comparing more than two features, the analysis employed the ANOVA test or the Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons test. Correlations were evaluated using Pearson's or Spearman's correlation test. The probability of disease progression and mortality was assessed through univariate and multivariate Cox regression analysis.

Based on indications for oxygen therapy of different levels of intensity or concentration, and/or the need of mechanical ventilation, the study results were analyzed in three distinct groups: patients not requiring oxygen therapy (mild course), patients requiring low-dose oxygen via nasal cannula or simple oxygen mask (severe course), and patients requiring high-dose oxygen via oxygen mask with reservoir or high-flow oxygen therapy, or necessitating non-invasive mechanical ventilation (critical course).

Results:

The mean concentration of irisin was 2.98±2.23 µg/ml. Irisin exhibited positive correlations with inflammatory markers such as MMP-9, ferritin, NLR, PLR, SII, CRP, and

the highest concentration of D-dimers. Higher irisin concentrations were found in patients with a more severe general condition upon hospital admission and more extensive changes in chest radiographic images. Furthermore, elevated initial irisin concentrations were negatively correlated with the lowest and final arterial blood oxidation. In the group of patients with a critical course of the disease, irisin concentration was significantly higher compared to those with a severe ($p<0.0001$) or mild ($p<0.0001$) course. Irisin concentration above the median was identified as an independent risk factor for progression to a critical course of COVID-19 ($p<0.05$). It was further correlated with an elevated risk of mortality ($p<0.05$); however, the factor demonstrated a dependency on other variables as well. Among 92% of patients whose irisin concentration was measured at the end of hospitalization, a decrease in its concentration was observed, while the remaining 8% showed an increase. There were no significant differences between these groups in the extent of inflammatory changes observed in radiographic images, arterial blood oxidation, clinical severity, or severity of inflammation.

The mean concentration of myostatin was 10.2 ± 9.35 ng/ml. It showed a positive correlation with ferritin concentrations and the maximum concentration of D-dimers. Patients with a critical course of the disease had higher myostatin levels compared to those with a severe course ($p<0.01$). Myostatin concentration was negatively correlated with arterial blood oxidation at the end of a treatment. An above-median myostatin concentration was identified as a risk factor for a critical course ($p<0.05$), but the factor demonstrated a dependency on other variables too. Among 49% of patients, an increase in myostatin concentration was observed, while in 51%, it decreased. Patients with a decrease in myostatin concentration during hospitalization had higher NLR, PLR, and SII values at admission.

The mean concentration of adiponectin was 27915 ± 10783 ng/ml. The initial concentration of adiponectin negatively correlated with ferritin concentration. Adiponectin concentration above the third quartile was an independent factor that reduced the risk of progression to a critical course in COVID-19 ($p<0.05$). In 56% of patients, an increase in adiponectin concentration was observed, while in 44%, it decreased. Patients with a decrease in adiponectin concentration during hospitalization had higher inflammatory markers such as NLR, PLR, and SII compared to patients with an increase in its concentration. The final concentration of adiponectin was higher in patients with cardiovascular diseases than in those without such conditions.

The mean concentration of resistin was 808.04 ± 706 pg/ml and exhibited a positive correlation with MMP-9, ferritin, CRP, NLR, SII and the highest concentration of D-dimers. Resistin concentration was significantly higher in patients with a critical course of the disease compared to patients with a severe course ($p < 0.05$) or mild course ($p < 0.0001$). Moreover, it was also higher in patients with a severe course compared to those with a mild course ($p < 0.05$). A resistin concentration above the median was identified as a risk factor for progression to a critical course of the disease ($p < 0.05$), although the factor demonstrated a dependency on other variables. Among 69% of the patients, a decrease in resistin concentration was observed, while in 31% of the patients, it increased. However, no significant differences were found between these two groups in terms of the extent of radiographic changes, arterial blood oxidation, clinical severity, or severity of inflammation.

Conclusions:

1. Skeletal muscles and adipose tissue play a role in body's response to SARS-CoV-2 infection.
2. In patients with COVID-19 increased irisin concentration reflects greater intensity of inflammatory state, more extensive radiological manifestations of inflammation, and more severe hypoxemia. Increased irisin concentration allows to predict a critical course of the disease and indicates increased risk of death. In the majority of patients, irisin concentration decreases during treatment.
3. In patients with COVID-19 increased myostatin concentration reflects greater intensity of inflammatory state and predicts a critical course of the disease. Myostatin concentration decreases or increases during treatment.
4. In patients with COVID-19 increased adiponectin concentration reflects greater intensity of inflammatory state and protects against disease progression to a critical state. Adiponectin concentration decreases or increases during treatment.
5. In patients with COVID-19 increased resistin concentration reflects greater inflammatory state and promotes disease progression to a critical state. In the majority of patients, resistin concentration decreases during treatment.