

А.М. Пожарицкий, А.П. Головацкий
**МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ
У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 ИНФЕКЦИЕЙ И
СОПУТСТВУЮЩЕЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**

*Научный руководитель: д-р мед. наук, проф.,
чл.-кор. нац. акад. наук Беларуси Ф.И. Висмонт*
Кафедра патологической физиологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.M. Pozharytski, A.P. Golovatsky
**MECHANISMS OF THE DEVELOPMENT OF HYPERGLYCEMIA
IN PATIENTS WITH COVID-19 INFECTION
AND CONCOMITANT CARDIOVASCULAR PATHOLOGY**

Tutor: professor F.I. Vismont
Department of Pathological Physiology
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. У пациентов с COVID-19 инфекцией и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией развивается гипергликемия и усугубляются процессы воспаления. Значимый вклад в эти механизмы вносит повышение уровня IL-1 β и фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α) в микроокружении альвеолярных макрофагов по причине усугубления гипоксического состояния, в результате наложения циркуляторной гипоксии на метаболическую и респираторную гипоксию.

Ключевые слова: COVID-19, ССП, гипергликемия, IL-1 β , HIF-1 α .

Resume. Patients with COVID-19 infection and concomitant cardiovascular pathology develop hyperglycemia and aggravate inflammation processes. A significant contribution to these mechanisms is made by an increase in the level of IL-1 β and hypoxia-induced factor (HIF-1 α) in the microenvironment of alveolar macrophages due to the aggravation of the hypoxic state, as a result of the superimposition of circulatory hypoxia on metabolic and respiratory hypoxia.

Keywords: COVID-19, concomitant cardiovascular pathology, hyperglycemia, IL-1 β , HIF-1 α .

Актуальность. В конце 2019 г. в китайском городе Ухань провинции Хубэй произошла вспышка новой коронавирусной инфекции. 11 февраля 2020 г. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) было определено официальное название инфекции, вызываемой данным коронавирусом, – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»). В тот же день Международный комитет по таксономии вирусов присвоил официальное название и возбудителю инфекции – SARS-CoV-2.

Первые публикации и отчеты китайских врачей и экспертов ВОЗ демонстрировали самые высокие показатели заболеваемости и смертности от COVID-19 среди лиц более старшего возраста с диагностированными сердечно-сосудистыми патологиями (ССП) и диабетом. На современном этапе изучения проблемы поражение сосудов микроциркуляторного русла считается центральным звеном патогенеза COVID-19 [2]. Однако до сих пор нет ясности о причинах гипергликемии у пациентов с COVID-19 инфекцией и сопутствующей ССП.

Цель: выяснить причины гипергликемии, а также механизмы ее развития у пациентов с COVID-19 инфекцией и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией.

Задачи:

1. Провести рандомизированный ретроспективный анализ клинико-лабораторных показателей пациентов с COVID-инфекцией с и без сопутствующей ССП.
2. Определить активность ферментов гликолиза в макрофагах крови при COVID-19 и ССП и выявить особенности их изменения.
3. Методом иммуноферментного анализа исследовать субпопуляции альвеолярных макрофагов, полученные из бронхоальвеолярного лаважа, а также их микроокружение.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе УЗ "4 ГКБ имени Н. Е. Савченко" и ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» в три этапа. Во время первого этапа проведен рандомизированный ретроспективный анализ медицинских карт 182 мужчин в возрасте $54 \pm 5,6$ лет, находившихся на лечении в УЗ "4 ГКБ имени Н. Е. Савченко". Во внимание принимались результаты: развернутого биохимического анализа крови (показатели: активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентрация С-реактивного белка, ферритина, глюкозы в крови), общего анализа крови (показатель: СОЭ), анализа кислотно-щелочного состояния (показатели: концентрация лактата, pCO_2 , PaO_2 , sO_2 в крови) и гемостазиограммы (показатели: содержание фибриногена, Д-димеров в крови).

Анализовались данные, полученные в день поступления пациента в стационар (в приемном отделении), и данные, полученные в динамике (через 4 дня, до приема глюкокортикостероидов (ГКС)). Все пациенты были разделены на 2 группы: первая группа ($N_1=89$) – пациенты с наличием COVID-19 без сопутствующей патологии, вторая группа ($N_2=93$) – пациенты с COVID-19 и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией (ИБС/АГ).

Второй этап исследования выполнен на базе отделения анестезиологии и реаниматологии ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии» у 16 пациентов мужского пола в возрасте $53 \pm 2,9$ лет, подтвержденным диагнозом COVID-19 инфекции средней степени тяжести и сопутствующей ССП. У всех обследуемых забиралась кровь в количестве 5 мл и проводилось ее центрифугирование в лабораторной центрифуге ELMi SM-6MT с целью сепарации макрофагов крови. Затем полученные клетки помещались в биохимический анализатор COBAS 6000 (модуль cobas e 601) для установления ферментного профиля (оценивалась активность ключевых ферментов гликолиза – гексокиназы, фосфофруктокиназы 1, пируваткиназы, а также ЛДГ и уровень IL-1 β в крови).

На третьем этапе взят бронхоальвеолярный лаваж в объеме 5,0 мл (БАЛ) у 41 пациента мужского пола. Пациенты были разделены на две группы: первая ($N_4=31$) – с подтвержденным диагнозом COVID-19 инфекции с тяжелым поражением легких и сопутствующей ССП без НУО в анамнезе, вторая ($N_3=10$) – контрольная группа с подтвержденной COVID-19 инфекцией тяжелой степени без сопутствующей ССП и без НУО в анамнезе. Взятый материал также центрифугировался, после чего проводился иммуноферментный анализ с целью выявления субпопуляций M1 и M2 альвеолярных макрофагов и фактора транскрипции, индуцируемого гипоксией (HIF-1 α). Далее обе популяции макрофагов помещались в биохимический анализатор COBAS 6000 (модуль cobas e 601).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel и Statsoft Statistica 10.0 методом вариационной статистики с помощью t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении) и U-критерия Манна-Уитни (при распределении, отличном от нормального). Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

1. У пациентов в N2 группе (табл. 2) развивается гипергликемия и усугубляются процессы воспаления, о чем свидетельствует значительное повышение уровня ферритина, С-реактивного белка, ЛДГ в крови по сравнению с пациентами с COVID-19 инфекцией без сопутствующей сердечно-сосудистой патологии (табл. 1). Риск тромбообразования также выше в группе N2 (возрастание уровней фибриногена и Д-димеров в крови).

Табл. 1. Группа N1.

СРБ	0-5 мг/л	18,9 мг/л	↑
Интерлейкин 6	0-7 пг/мл	24 пг/мл	↑
Ферритин	м: 28-200 мкг/л	284,1 мг/л	↑
ЛДГ	0-248 Е/л	287,4 Е/л	↑
Глюкоза	4,1-5,9 ммоль/л	4,1-5,9 ммоль/л	N
РаО₂	23,3-35,1 mmHg	18 mmHg	↓
pCO₂	32-48 mmHg	32-48 mmHg	N
sO₂	54-69 %	29,58%	↓
Лактат	1,2-1,4 ммоль/л	1,2-1,4 ммоль/л	N
ABE	-2-3 ммоль/л	-2-3 ммоль/л	N
Фибриноген	2,76-4,71 г/л	7,25 г/л	↑
Д-димеры	0-255 нг/мл	478 нг/мл	↑

Табл. 2. Группа N2.

СРБ	0-5 мг/л	97 мг/л	↑
Интерлейкин 6	0-7 пг/мл	43 пг/мл	↑
Ферритин	м: 28-200 мкг/л	486,2 мг/л	↑
ЛДГ	0-248 Е/л	399,1 Е/л	↑
Глюкоза	4,1-5,9 ммоль/л	7,92 ммоль/л	↑
РаО₂	23,3-35,1 mmHg	19,7 mmHg	↓
pCO₂	32-48 mmHg	32-48 mmHg	N
sO₂	54-69 %	34,2%	↓
Лактат	1,2-1,4 ммоль/л	3,18 ммоль/л	↓
ABE	-2-3 ммоль/л	-8,5 ммоль/л	↑
Фибриноген	2,76-4,71 г/л	7,79 г/л	↑
Д-димеры	0-255 нг/мл	521 нг/мл	↑

2. В итоге проведенного второго этапа исследования выявлено, что: снижалась активность ферментов гликолиза на 46 (42-51)% от нормы. При этом наименьшая активность отмечалась у гексокиназы – 59 (56-64)% от первоначальной, а наибольшая у фосфофруктокиназы 1 – 79 (68-77)% – фермента, активность которого во многом

зависит от уровня инсулина [1]. Возрастала активность ЛДГ, что могло быть обусловлено усугублением тканевой гипоксии, вызванной COVID-19, циркуляторной гипоксией, обусловленной ССП. Гипоксия приводит к увеличению концентрации лактата, а он, в свою очередь, повышает активность ЛДГ. Также определен уровень IL-1 β в крови, среднее значение составило 79,6 (56,2-97,4) пг/мл при референсных значениях <5 пг/мл.

3. Как известно по литературным данным, референсное значение отношения противовоспалительных M2 АМ к провоспалительным M1 АМ составляет 0,5/1-1,5/1 [4]. У N4 группы пациентов обнаружено смещение соотношения субпопуляций M2/M1 в БАЛ в сторону M2 АМ, а именно: количество АМ субпопуляции M2 в 5,5 раз больше количества АМ субпопуляции M1. В N3 группе количество АМ субпопуляции M2 больше количества АМ субпопуляции M1 в 4,34 раза. Таким образом установлено, что отношение АМ субпопуляций M2/M1 достоверно выше у пациентов N4 группы – в 1,27 раз ($U = 59,0$, $p < 0,01$). Также отмечено значительное снижение АМ субпопуляции M1 относительно референсных значений: в 6,83 раза у N4 группы пациентов, в 6,41 раз – у N3 (контрольной) ($U = 156,0$, $p > 0,05$).

Смещение соотношения субпопуляций M2/M1 АМ в БАЛ в сторону M2 – к 4/1 и более – является признаком тяжелого воспаления, т.к. провоспалительные цитокины (IFN γ и лиганды Toll-R), вырабатываемые M1 субпопуляцией при инфекции, являются стимуляторами перехода M1 АМ в M2 АМ, которые в свою очередь являются противовоспалительными макрофагами и продуцируют соответствующие цитокины (IL-4 и IL-13) [7]. В микроокружении АМ обеих групп пациентов обнаружены SOCS белки и превышение уровней IL-1 β АМ, IFN γ , лигандов Toll-рецепторов, IL-4 и IL-13.

Значительное повышение уровня IL-1 β АМ в микроокружении указывает на лизис субпопуляции M1 АМ, вызванный цитопатическим действием вируса SARS-CoV-2. Показано, что IL-1 β , выходящий из лизированных M1 АМ, опосредует снижение чувствительности тканей к инсулину путем блокировки передачи его сигналов в клетках-мишенях через выработку воспалительных белков SOCS, которые обнаруживаются только при патологических состояниях. Помимо этого, IL-1 β вызывает цитотоксичность и гибель β -клеток поджелудочной железы.

Отмечено, что M1 субпопуляция АМ активно участвует в регуляции углеводного обмена [6]. Более высокий уровень гликолиза обусловлен переключением экспрессии изоформы 6-Фосфофрукто-2-киназы (PFK2), изолированной в гепатоцитах, к более распространенной и активной изоформе PFK2 (uPFK2), которая встречается повсеместно в организме.

При значительных концентрациях IL-1 β в крови, в гепатоцитах изменяется экспрессия генов в сторону синтеза протеинов и запускается продукция белков “острой фазы”. В этих условиях другие системы гепатоцита, такие как комплекс ферментов цитохрома P450 и ферментов гликолиза, начинают истощаться [5]. Установлено, что большие концентрации IL-1 β способны вызывать обратимую альтерацию гепатоцитов и, как результат, их дисфункцию в отношении гликолиза. По нашим данным есть основания полагать, что при COVID-19 инфекции и вызванном ей увеличении IL-1 β (среднее значение – 79,6 пг/мл в группе с COVID-19 инфекцией и сопутствующей

ССП) в крови происходит снижение активности гепатоцитов, в том числе и расщепления глюкозы.

Также выявлено увеличение содержания фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1a) в микроокружении AM относительно референсных значений в 5,39 (3,98-6,92) раз у пациентов N4 группы и в 1,98 (1,23-2,92) раза у пациентов N3 группы (контрольной). Установлено, что увеличение содержания HIF-1a достоверно выше у пациентов N4 группы, в 2,72 раза, $U = 2,0$, $p < 0,01$. Данный фактор появляется при гипоксических состояниях и обнаруживается при ишемической болезни сердца и ХОБЛ. В больших количествах может повышать инсулинорезистентность окружающих тканей [3]. Столь существенное различие в содержании HIF-1a в группах позволяет предположить, что при COVID-19 инфекции, осложненной ССП, имеет место более выраженная гипоксия, и, по-видимому, по причине повышения инсулинорезистентности тканей фактором, индуцируемым гипоксией, происходит нарушение регуляции инсулинозависимых ферментов гликолиза. Установлено, что данный фактор способствует дополнительному переходу M1 AM в M2 AM, что удалось проследить на примере наших пациентов: в N4 группе с ССП количество M2 по отношению к M1 больше, чем в N3 группе на 19,35% ($p < 0,01$). Как результат – развитие выраженной гипергликемии при респираторной, метаболической и циркуляторной гипоксии у пациентов, имеющих COVID-19 и сопутствующую ССП.

Выводы:

1. У пациентов с COVID-19 инфекцией и сопутствующей ССП развивается гипергликемия и усугубляются процессы воспаления.
2. Значимый вклад в механизмы развития гипергликемии при COVID-19 инфекции и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии вносит повышение уровня IL-1 β в микроокружении альвеолярных макрофагов и крови.
3. Немаловажным фактором, имеющим значение в механизмах развития гипергликемии при COVID-19 инфекции и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии является и значительное повышение уровня фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1a) в микроокружении альвеолярных макрофагов по причине усугубления гипоксического состояния, в результате наложения циркуляторной гипоксии на метаболическую и респираторную.

Литература

1. Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени / К. Ю. Кулебякин, Д. Н. Пеньков, В. Н. Семенов и др. // Сахарный диабет. – 2016. – № 3. – С. 190-198.
2. Патогенез COVID-19 / А. Е. Абатуров, Е. А. Агафонова, Д. М. Евстафьев и др. // Здоровье ребенка. – 2020. – № 2. – С. 133-144.
3. Cellular and developmental control of O2 of hypoxia-inducible factor 1 / N. V. Iyer, L. E. Kotch, F. M. Agani et al. // Genes & Dev. – 1998. – № 12. – P. 149-162.
4. Characterization of macrophage phenotypes in three murine models of house-dust-mite-induced asthma / C. N. Draijer, P. P. Robbe, C. E. Boorsma et al. // Mediators Inflamm. – 2013. – № 4. – P. 621-632.
5. Orchestration of metabolism by macrophages / S. K. Biswas, A. C. Mantovani, W. R. James et al. // Cell Metab. – 2012. – № 4. – P. 432-437.
6. The Role of Inflammation in Cholestasis: Clinical and Basic Aspects / A. M. Kusters, S. D. Karpen, M. B. Roberts et al. // Seminars in Liver Disease. – 2010. – № 2. – P. 186-194.
7. The role of macrophage polarization in infectious and inflammatory diseases / A. C. Labonte, A. C. Tosello-Trampont, Y. S. Hahn et al. // Mol. Cells. – 2014. – № 4. – P. 275-285.