

ОЦЕНКА ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА, ИНФИЦИРОВАННЫХ COVID-19

Аслонова Маржона Рамазоновна

Бухарский Государственный медицинский
институт имени Абу Али ибн Сина

Кафедра инфекционных и детских инфекционных болезней

aslonovam93@gmail.com

Ключевые слова: SARS CoV-2, пневмония, сахарный диабет 2 типа, пневмония, интерферон

Абстракт

Актуальность: В 2020 г. мир столкнулся с беспрецедентным вызовом для здоровья людей, связанным со вторжением нового коронавируса SARS CoV-2. Это также вызов и для систем здравоохранения всех стран мира. Наиболее уязвимыми в данных условиях оказались пациенты с сахарным диабетом (СД) вследствие особенностей состояния их иммунного статуса и иммунного ответа на вирусную атаку, вследствие чрезмерно высокой активности вируса в условиях гипергликемии, вследствие коморбидности и ожирения, которые часто сопутствуют течению СД.

Цель: Изучение и оценка интерферонового статуса у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, инфицированных Covid-19.

Материалы и методы: В исследование было включено 103 пациентов, госпитализированных с диагнозом SARS-CoV-2 пневмонии и сахарным

диабетом в Бухарской областной инфекционной больнице, которую переорганизована в Ковид-центр 2021-2022гг. Диагноз был поставлен на основания клинико-эпидемиологических, обективных и лабораторных (ИФА, ПЦР) данных. Изучении показателей интерферонового (INF- α , INF- γ) статуса в крови больных проводились в лаборатории иммуноморфологии института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Результаты: Анализ уровня сывороточных циркулирующих интерферонов показал снижение синтеза IFN α в 2,3 раза у больных 1-группы ($p<0,001$), в 2,0 раза у больных 2-группы ($p<0,001$), в 1,38 раза у больных 3-группы ($p<0,05$). Анализ уровня INF- γ показал снижение синтеза IFN γ в 1,5 раза у больных 1-группы ($p<0,05$), в 1,79 раза у больных 2-группы ($p<0,01$), в 1,6 раза у больных 3-группы ($p<0,05$)

Выводы: Таким образом, изучение интерферонового статуса у больных с коронавирусной инфекцией на фоне СД 2-типа показало, что IFN- γ - является индикатором тяжести данного заболевания.

Актуальность:

Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19) — это недавно признанное инфекционное заболевание, вызванное тяжелым острым респираторным синдромом коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), которое недавно было объявлено пандемией[15]. Количество летальных исходов от COVID-19 растет. По состоянию на 21 апреля 2020 г. во всем мире было подтверждено 2 397 217 пациентов, 162 956 человек умерли. Всего в Китае диагностировано 84 250 случаев, из которых 4642 умерли[16]. Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19), вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2 (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2), резко достигла масштабов пандемии. SARS-CoV-2 является членом семейства бетакоронавирусов , а также SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) и MERS-

CoV (коронавирус, связанный с ближневосточным респираторным синдромом).

С начала 2020 года число подтвержденных случаев COVID-19 во всем мире резко возросло и к марту 2020 года превысило миллион[19]. Сопутствующие заболевания являются серьезным фактором риска более тяжелого течения коронавирусной пневмонии и летального исхода заболевания[8].

Для SARS хронические сердечные заболевания, диабет, хронический гепатит В, злокачественные новообразования и хронические легочные заболевания являлись основными неблагоприятными прогностическими факторами[9].

В самом начале эпидемии были выделены заболевания, повышающие смертность на фоне COVID-19. В группу данных заболеваний входят артериальная гипертензия, ожирение, сахарный диабет (СД), сердечно-сосудистые заболевания, заболевания почек и печени[1].

СД ухудшает исход большинства острых и хронических заболеваний, что приводит к сокращению продолжительности жизни. Смертность от инфекционных заболеваний также выше у пациентов с СД, особенно при развитии пневмонии или сепсиса[2].

СД 2-го типа (СД2) – вторая по частоте сопутствующая патология при COVID-19[18].

Метаанализ исследований, описывающих характеристики пациентов в зависимости от степени тяжести COVID-19 в Китае, показал, что СД в 2–3 раза увеличивает вероятность неблагоприятных исходов заболевания[13].

В американском исследовании у 5700 пациентов с COVID-19

(средний возраст 63 года; 39,7% женщин) наиболее частыми

сопутствующими заболеваниями были артериальная гипертензия (56,6%), ожирение (41,7%) и СД (33,8%)[11].

Распространенность СД у пациентов с COVID-19 варьирует

в разных странах и составляет от 11 до 45%. В крупных исследованиях была продемонстрирована более высокая частота СД в когорте пациентов с тяжелым течением заболевания (16,3%), чем среди пациентов с легким течением (6,9%)[10].

По данным С. Huang и соавт.[4], 72% пациентов с COVID-19

и сопутствующими заболеваниями (включая СД) нуждались

в госпитализации в отделение интенсивной терапии по сравнению с 37% без сопутствующих заболеваний. Европейские данные сообщают также о том, что СД чаще регистрировали в группе пациентов отделения интенсивной терапии [9].

Наличие СД у пациента увеличивает риск госпитальной

смерти в 2,85 раза[5], что сопоставимо по степени риска с пациентами онкогематологического профиля (в 5,35 раза) и пациентами с ожирением (в 3,2 раза). В крупном эпидемиологическом исследовании Китайского центра по контролю за заболеваниями смертность от COVID-19 при СД составила 7,3%,

что значительно выше, чем смертность от COVID-19 без каких-либо сопутствующих заболеваний (0,9%) при общем уровне летальности 2,3%[3].

Нейтрофилы, С-реактивный белок и некоторые цитокины (такие как IL-6, TNF, IL-10) увеличиваются при COVID-19, и это повышение коррелирует с тяжестью заболевания и смертью[14].

При серьезном заболевании были обнаружены те же уровни белка, и увеличение воспалительных цитокинов коррелирует со снижением Т CD4 + и Т CD8 + лимфоцитов и снижением продукции IFN γ . В-лимфоциты, по-видимому, не подвержены заболеванию, независимо от степени тяжести [6].

Эти характеристики, наблюдаемые у пациентов, указывают на то, что COVID-19 может быть опосредован интенсивным воспалительным процессом, который зависит от тяжести заболевания. Как и в случае SARS-CoV-1 и MERS, это повышение уровня цитокинов, известное как цитокиновый штурм, может быть связано с патогенезом заболевания [7]. На фоне пандемии COVID-19 отмечают увеличение количества смертей населения во всех странах. При этом выделяют отдельные группы пациентов, в которых смертность значительно превышает среднестатистический показатель. К одной из таких групп, безусловно, относят больных сахарным диабетом (СД). Многочисленные исследования в различных странах продемонстрировали более высокий риск заражения COVID-19 у больных СД, а также более тяжелое течение болезни и высокий уровень летальности [21].

Материалы и методы: В исследование было включено 103 пациентов, госпитализированных по поводу SARS-COV-2 пневмонии в Бухарской областной инфекционной больнице, которую переорганизована в Ковид-центр. Из всех госпитализированных по поводу SARS-COV-2 пневмонии на фоне СД 2-типа, больных с тяжелой формой пневмонии составило -35 (1-группа), со средней тяжестью- 33 (2-группа). Группу сравнения (3-группа) составили 35

пациентов с SARS-COV-2 пневмонией не страдающих СД. Контрольную группу составили 30 здоровых людей соответствующего возраста.

Средний возраст больных 1-группы составил $60,2 \pm 2,2$ года, у пациентов 2-группы- $50,0 \pm 2,0$ года, а в группе сравнения- $52,4 \pm 2,0$ года.

В контроле средний возраст составил $54,0 \pm 2,0$ года.

Среднее время пребывания в стационаре составило у пациентов: 1-группы- $8,7 \pm 0,47$ дней, 2-группы - $6,4 \pm 0,26$ дней, 3-группы- $10,6 \pm 0,45$ дней.

Иммунологические исследования крови больных проводились в лаборатории иммуноморфологии института иммунологии и геномики человека АН РУз. Изучены показатели интерферонового (INF- α INF- γ) статуса в крови. Тест-система использована производителем ЗАО «Вектор Бест» (СПб). Определение уровня цитокинов проводили согласно прилагаемой инструкции. Принцип работы набора согласно прилагаемой инструкции. В наборе использован «сэндвич»-вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы по два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к изучаемым цитокинам. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с пероксидазой. На первой стадии анализа, содержащийся в калибровочных и исследуемых пробах, связывается с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. На второй стадии анализа, иммобилизованный интерлейкин взаимодействует с коньюгатом вторых антител - пероксидазой. Количество связавшегося коньюгата прямо пропорционально количеству интерлейкина в исследуемом образце.

Во время инкубации с субстратной смесью происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся меченых антител. После измерения оптической плотности раствора

в лунках на основании калибровочной кривой рассчитывается концентрация соответствующего интерлейкина в определяемых образцах.

Результаты:

Пациенты с СД2 относятся к наиболее уязвимой группе больных COVID-19. Смертность среди пациентов с СД2 в 2 раза выше

по сравнению с лицами без СД в анамнезе, с преимущественным преобладанием женщин в доле смертельных исходов. Больные

СД2 имели высокую частоту ассоциированных заболеваний (ИБС, ХСН, ХБП, ожирение) и характеризовались закономерно более

тяжелым течением COVID-19, с долей ИВЛ и переводов в ОРИТ в 1,3 раза большей по сравнению с группой без СД. Из сердечнососудистых заболеваний АГ по сравнению с ИБС и ХСН имела наибольшее значение в риске летального исхода для пациентов с СД2. У пациентов с СД2 риск смерти выявляется в более раннем возрасте, чем у лиц без СД (66 лет против 71 года). Точки отсечения по данным ROC-анализа основных параметров, отражающих тяжесть течения COVID-19 (СРБ, ЛДГ, D-димера) ниже в группе СД2, чем

в группе контроля[22].

Исследования проведенные в Узбекистане показали, что COVID-19 явился причиной летальных исходов в 6,7% случаев, пандемия COVID-19 явилась причиной значительного повышения летальности - в 1,5 раза среди пациентов с СД, в основном за счет острых сердечно-сосудистых катастроф, а также ускорения прогрессирования хронических осложнений

СД[23]

С учетом выше приведенных результатов исследований для изучения состояния иммунитета, в частности интерферонового статуса, проводили исследование по определению уровня INF- α и INF- γ в сыворотке крови пациентов страдающих SARS-COV-2 пневмонией при ассоциации с сахарным диабетом 2 типа.

Анализ уровня сывороточных циркулирующих интерферонов показал снижение синтеза IFN α в 2,3 раза у больных 1-группы ($p<0,001$), в 2,0 раза у больных 2-группы ($p<0,001$), в 1,38 раза у больных 3-группы ($p<0,05$), табл.1.

Таблица 1

Содержание интерферонов в крови

показатели	IFN α (ME/ml)	IFN γ (ME/ml)
группа контроля	min-max	28,6-48,8 45,5-94,2
среднее	$38,7\pm0,67$	$76,5\pm0,56$
1-группа	min-max	10,68- 28,13 33,26-88,69
среднее	$17,04\pm 0,88^{***}$	$50,96\pm2,85^*$
2-группа	min-max	9,2-32,1 21,2-101,34
среднее	$19,6\pm 0,66^{***}$	$42,7\pm 2,79^{**}$
3-группа		

min-max 14,46-43,5 30,94-102,2

среднее $28,03 \pm 0,88^*$ $48,97 \pm 2,75^*$

Примечание: *-достоверно по отношению к группе контроля

(*- $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Известно, что IFN α является основной интерфероном, который синтезируется в культуре лейкоцитов, индуцированной вирусом. Главными продуцентами IFN α являются плазматоидные дендритные клетки, существенный вклад в IFN α - продуцирующую способность крови вносят моноциты. Основные его функции – противовирусная активность и активация естественных киллеров.

Следовательно, полученные результаты анализа уровня IFN α показал снижение противовирусной активности у пациентов с SARS-CoV-2 пневмонией, не зависимо от наличия СД-2 типа как сопутствующее заболевание. Полученные данные носят статистическую значимость у пациентов с SARS-CoV-2 пневмонией на фоне СД 2-типа на уровне $p < 0,001$, а пациентов группы сравнения степень достоверности составляет $p < 0,05$.

Анализ уровня INF- γ показал снижение синтеза IFN γ в 1,5 раза у больных 1-группы ($p < 0,05$), в 1,79 раза у больных 2-группы ($p < 0,01$), в 1,6 раза у больных 3-группы ($p < 0,05$), рис.1.

Рисунок 1. Интерфероны при коронавирусной инфекции в зависимости от тяжести пневмонии и наличия сахарного диабета 2-типа

В настоящее время доказано, что INF- γ - основной интерферон, продуцирующийся иммунологически стимулированной (митогенами или антигенами) культурой лимфоцитов. Основные клетки-продуценты ИФН - γ - Т-лимфоциты. Основная функция гамма-интерферона заключается в иммунорегуляции (включая активацию макрофагов, усиление Th1-ответа, индукцию экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости типа II на антигенпрезентирующих клетках и др.); так же, как и другие интерфероны, он проявляет противовирусную и антипrolиферативную активность.

Результаты исследований по изучению концентрации INF- γ в крови у пациентов показали снижение синтеза INF- γ у больных не зависимо от наличия СД 2-типа и тяжести SARS-COV-2 пневмонии. Следует отметить, в ходе исследования выявили более глубокое снижение синтеза INF- γ в крови у пациентов со средней степенью тяжести SARS-COV-2 пневмонии на фоне СД 2-типа. При этом минимальный уровень INF- γ составил 21,2 пг/мл, а максимальный -101,34. Следовательно, такая большая разница в результатах исследования показывает зависимость состояния интерферонового синтеза от давности основного заболевания и наличия других сопутствующих хронических заболеваний.

Учитывая столь мощный противовоспалительный потенциал глюкокортикоидов (ГК), эти препараты широко начали применяться в лечении COVID-19 с целью подавления «цитокинового шторма».

Однако, в процессе назначения этих препаратов возникли опасения в связи с более частым развитием осложнений заболевания, включая острый респираторный дистресс-синдром, или усилением репликации вируса, выявленной по более высокой концентрации вирусной РНК через 2–3 нед после начала лечения ГК (по сравнению с группой плацебо)[12].

Детальный анализ этих исследований позволяет предположить, что

наиболее важным для получения позитивного противовоспалительного эффекта ГК в лечении COVID-19 является время назначения препаратов и их дозы. Высокие «пульсовые» 1–2 дозы препаратов в острой фазе инфекции могут очень эффективно подавить воспалительную реакцию, в то время как длительное введение ГК может провоцировать интенсивную репликацию вируса. Эта гипотеза подтверждается исследованиями, где высокие дозы стероидов оказывали благоприятный эффект на течение острого респираторного дистресс-синдрома, но не в условиях коронавируса [17].

С учетом выше приведенных результатов исследований современных ученых, следует, что интерфероносинтез у пациентов группы обследования, зависит от дозы ГК, давности приема антидиабетических препаратов и давности основного заболевания. При этом также не исключается влияние других сопутствующих неинфекционных хронических заболеваний и прием ГК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Таким образом, изучение интерферонового и цитокинового статуса у больных с коронавирусной инфекцией на фоне СД 2-типа показало зависимость исхода заболевания от мультифакторов:

- наличие СД и хронических неинфекционных заболеваний других органов;
- срока употребления антидиабетических препаратов;
- глюкокортикоидотерапии.

При этом, IFN- γ - является индикатором тяжести коронавирусной инфекции у пациентов с СД 2-типа.

Литература:

1. Clerkin K.J., Fried J.A., Raikhelkar J., Sayer G., Griffin J.M., Masoumi A. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and cardiovascular disease // Circulation. 2020. Vol. 141. P. 1648–1655. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941>
2. Clerkin K.J., Fried J.A., Raikhelkar J., Sayer G., Griffin J.M., Masoumi A. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and cardiovascular disease // Circulation. 2020. Vol. 141. P. 1648–1655. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941>
3. Guo W., Li M., Dong Y., Zhou H., Zhang Z., Tian C. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19 // Diabetes Metab. Res. Rev. 2020. Mar 31. Article ID e3319. DOI: <https://doi.org/10.1002/dmrr.3319>
4. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // Lancet. 2020. Vol. 395. P. 497–506
5. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // Lancet. 2020. Vol. 395. P. 497–506

6. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al., 2020; Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al., 2019
7. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al., 2020
8. H4ui DS, Zumla A ,2019; Yin Y, Wunderink RG ,2018; Hui DS, Memish ZA, Zumla A .,2014; Badawi A, Ryoo SG. ,2016]
9. Hui DS, Zumla A. ,2019; Yin Y, Wunderink RG.2018; Hui DS, Memish ZA, Zumla A ,2014
10. Jeong I.K., Yoon K.H., Lee M.K. Diabetes and COVID-19: global and regional perspectives // Diabetes Res. Clin. Pract. 2020. Vol. 166. Article ID 108303. PMCID: PMC 7332438 PMID: 32623038
11. Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford J.M., McGinn T., Davidson K.W. et al.; the Northwell COVID-19 Research Consortium. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area // JAMA. 2020. Vol. 323, N 20. P. 2052–2059. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6775>
Erratum in: JAMA. 2020. Vol. 323, N 20. P. 2098. PMID: 32320003; PMCID: PMC 7177629]
12. Russell B, Moss C, Rigg A, Hemelrijck MV. COVID-19 and treatment with NSAIDs and corticosteroids: should we be limiting their use in the clinical setting? Ecancer. 2020;14:1023.

doi: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1023>.

13. Roncon L., Zuin M., Rigatelli G., Zuliani G. Diabetic patients with COVID-19 infection are at higher risk of ICU admission and poor short-term outcome // J. Clin. Virol. 2020. Vol. 127. Article ID 104354
14. World Health Organization Coronavirus Disease (COVID-2019) Situation Reports 158. Geneva: WHO; (2020). [Google Scholar]
15. World Health Organization Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [EB/OL] 2020-02-11. [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it) [Ref list]
16. World Health Organization Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report – 92. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200421-sitrep-92-covid-19.pdf?sfvrsn=38e6b06d_6
17. Zhao Z, Zhang F, Xu M, et al. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China. J Med Microbiol. 2013;52(Pt 8):715–720. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05320-0>
18. Zhu L., She Z.G., Cheng X., Qin J.J., Zhang X.J., Cai J. et al. Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-existing type 2 diabetes // Cell Metab. 2020. Vol. 31, N 6. P. 1068–1077.e3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.04.021>

PMID: 32369736; PMCID: PMC 7252168

19. Всемирная организация здравоохранения (2018 г.) Глобальный доклад о диабете. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. По состоянию на 17 марта 2020 г.
20. Демидов Н.А., Андреева А.В., Анциферов М.Б. Сахарный диабет и COVID-19 в Москве: статус 2020 г. // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 2. С. 32–40. DOI: <https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-2-32-40>
21. Демидов Н.А., Андреева А.В., Анциферов М.Б. Сахарный диабет и COVID-19 в Москве: статус 2020 г. // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 2. С. 32–40. DOI: <https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-2-32-40>
22. Пономарева А.А. Прогностические факторы риска клинических исходов пациентов с сахарным диабетом 2 типа и новой коронавирусной инфекцией // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 3. С. 106–108. DOI: <https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-3-106-108>
23. Хайдарова Ф.А., Алиева А.В., Бердыкулова Д.М., Алимова Н.У., Халилова Д.З., Тожиева И.М. Структура смертности среди пациентов с сахарным диабетом в Республике Узбекистан во время пандемии COVID-19 // Сахарный диабет. — 2022. — Т. 25. — №4. — С. 322-326. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12786C>