

Исследование взаимосвязей уровня HIF-2 α в сыворотке крови и показателей тяжести заболевания у пациентов с COVID-19

Д.О. Мельников¹, студент 4 курса лечебного факультета (melnikovdenis200219@gmail.com);

С.Н. Райцев¹, ассистент кафедры онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии (raitsevsergei@yandex.ru);

В.И. Звягина¹, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии (vizvyagina@yandex.ru);

Э.С. Бельских¹, кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской терапии имени профессора В.Я. Гармаша (ed.bels@yandex.ru).

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, 9).

Цель исследования: оценить взаимосвязь HIF-2 α плазмы крови и основных показателей, характеризующих тяжесть заболевания у пациентов с COVID-19 инфекцией различной степени тяжести как потенциального биомаркера адаптации к гипоксии.

Материалы и методы. В пилотном исследовании участвовали 25 больных, выписанных из ковидного стационара ГБУ РО БСМП г. Рязань. Количество HIF-2 α в сыворотке крови определяли методом ИФА (иммуноферментный анализ) на 7-й день госпитализации. Показатели, характеризующие тяжесть течения COVID-19, фиксировались по данным историй болезней.

Результаты. Анализ данных, взятых на 7-й день госпитализации, указывал на корреляцию между HIF-2 α и числом койко-дней, а также выявлял связь между уровнями исследуемого фактора и частотой сердечных сокращений.

Выводы. Результаты исследования позволяют предположить важную роль измерения уровня сывороточного HIF-2 α в оценке характера гипоксического состояния у пациентов с COVID-19.

Ключевые слова: HIF-2 α , COVID-19, адаптация к гипоксии.

Study of interrelationships of HIF-2 α level in serum and disease severity indicators in patients with COVID-19

D.O. Melnikov¹, 4th year student of the Faculty of Medicine (melnikovdenis200219@gmail.com);

S.N. Raitsev¹, Assistant of the Department of Oncology with a course in Anesthesiology and Intensive Care (raitsevsergei@yandex.ru);

V.I. Zvyagina¹, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry (vizvyagina@yandex.ru);

E.S. Belskikh¹, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Faculty Therapy named after Prof. V.Y. Garmash (ed.bels@yandex.ru).

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov of the Ministry of Health of the Russian Federation (9, Vysokovoltynaya str., Ryazan, 390026).

Purpose of the study: to evaluate the relationship between blood plasma HIF-2 α and the main indices characterizing the severity of the disease in patients with COVID-19 infection of varying severity as a potential biomarker of adaptation to hypoxia.

Materials and methods. 25 patients discharged from the covid hospital of GBU RO BSMP Ryazan participated in the pilot study. The amount of HIF-2 α in serum was determined by ELISA on day 7 of hospitalization. Indicators characterizing the severity of the course of COVID-19 were recorded according to case histories.



Results. Analysis of data taken on day 7 of hospitalization indicated a correlation between HIF-2 α and the number of bed days, and also revealed an association between levels of the factor under study and heart rate.

Conclusions. The results of this study suggest an important role of measuring serum HIF-2 α levels in assessing the nature of the hypoxic state in patients with COVID-19, as reflected in the correlation with the duration of hospitalization.

Keywords: HIF-2 α , COVID-19, hypoxia adaptation.

Коронавирусная инфекция 2019 года (COVID-19) — заболевание, вызываемое вирусом SARS-CoV-2, которое начало распространяться в декабре 2019 года, впоследствии заразило миллионы людей по всему миру и привело к сотням тысяч смертей заболевших новой коронавирусной инфекцией [1]. По сей день COVID-19 остаётся серьёзной проблемой и требует решения вопросов, касающихся данной болезни, в частности, оценка прогноза состояния пациентов и характера течения заболевания [2].

Известно, что HIF-1 α вовлечён в ряд патологических процессов у больных COVID-19 [3]: стабилизация молекулы способствует метаболическому перепрограммированию макрофагов с переходом макрофагов на анаэробный гликолиз с ограничением митохондриальных окислительных процессов, что в конечном итоге связано с формированием провоспалительного M1-фенотипа и способно привести к развитию цитокинового шторма [4, 5].

Вместе с тем HIF-1 α стабилизируется в условиях острой гипоксии и определяет срочные механизмы адаптации к гипоксии: индукция гликолитических ферментов, лактатдегидрогеназы, транспортёра глюкозы 1, ограничение окислительного фосфорилирования [6].

Успешная адаптация к острой гипоксии приводит к повышению уровня внутрицитозольного кислорода и возвращению активности пролилгидроксилазы в отношении HIF-молекул, а также дестабилизацией мРНК HIF-1 α , что сопровождается снижением уровня HIF-1 α и увеличением содержания HIF-2 α [7]. HIF-2 α — молекула, ответственная за реализацию механизмов адаптации к хронической гипоксии, что достигается путём индукции синтеза сигнальных молекул, способствующих формированию сосудистой сети, а также компонентов соединительной ткани. Таким образом, HIF-2 α играет роль в организации клеточных взаимодействий, необходимых для правильного формирования сосудистой сети и эффективной биосигнализации [8].

Измерение уровней сывороточных HIF в роли прогностических биомаркеров уже проявило себя у пациентов с перенесённым инсультом — для HIF-1 α [9]; у пациентов с раком гортани и интоксикацией угарным газом — для HIF-2 α [10, 11].

При этом возможное клиническое значение сывороточной концентрации HIF-2 α у пациентов с COVID-19 остается практически не исследованным. В этой связи, целью исследования стало изучить взаимосвязи сывороточного HIF-2 α с показателями, характеризующими тяжесть течения COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено ЛЭК ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (выписка из протокола № 2 от 11 сентября 2022 г.). Все обследуемые подписали информационное согласие на участие в исследовании и использовании их биопроб.

В пилотное исследование было включено 25 пациентов (14 женщин и 11 мужчин), проходивших лечение в ковидном госпитале ГБУ РО «ГКБСМП» (г. Рязань). Средний медианный возраст составил 64 [58; 68] лет, для мужчин 64,50 [62,00; 66,75] лет, для женщин 63,0 [56,5; 68,5] лет.

Критериями включения в обследуемые группы были: возраст старше 30 лет, верифицированный диагноз «коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV2 (COVID-19)».

Критериями исключения для всех пациентов служили злокачественные новообразования.

Степень тяжести устанавливалась в соответствии с временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на основании физического, функционального и общеклинического обследований, данных компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки [12].

Общая клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Количество HIF-2 α в плазме крови определяли с помощью наборов фирмы "Cloud-Clone Corp." (KHP) методом конкурентного ИФА на микропланшетном фотометре для иммуноферментного анализа STAT FAX 3200 ("Awareness Technologies", США). Результаты выражали в нг/мл в плазме крови.

Статистическая обработка проводилась с помощью JASP (JASP Team (2024). JASP (Version 0.18.3) [Computer software]). Соответствие выборок нормальному распределению проверяли посредством



Таблица 1

Клиническая характеристика исследованных пациентов
Clinical characteristics of the studied patients

Показатель	Выписанные (n = 25)
Пол	
Мужской	n = 11
Женский	n = 14
Возраст	64 [58; 68]
Койко-дни	17 [11 ;21]
Степень тяжести	
Средняя	n = 15
Тяжёлая	n = 10
Степень тяжести по КТ	2 [1; 3]
Степень ДН	1 [1; 2]
ИБС	24 % (6)
СД	36 % (9)
ГБ	68 % (17)
Индекс коморбидности	4 [3; 6]
SpO2, %	97 [94; 99]
ROX, баллы	13,75 [12,38; 23,56]
ЧДД, д/мин	19 [18; 20]
Среднее АД, мм. рт. ст.	96,67 [94,67; 103,33]
Температура, °С	36,6 [36,6; 36,6]
СРБ, мг/л	6;00 [2;00; 11;00]
NEWS2, баллы	0 [0; 2]

Примечание: результаты представлены в виде (Me [Q1; Q3]); КТ — компьютерная томография, ДН — дыхательная недостаточность, ИБС — ишемическая болезнь сердца, СД — сахарный диабет, ГБ — гипертоническая болезнь, SpO2 — насыщение крови кислородом, ROX — индекс, определяющий соотношение фракции кислорода во вдыхаемом воздухе к сатурации и частоте дыхания, ЧДД — частота дыхательных движений, АД — артериальное давление, СРБ — С-реактивный белок, NEWS2 — National Early Warning Score, шкала оценки тяжести пациентов с COVID-19.

критерия Шапиро-Уилка. Анализ корреляционных взаимосвязей осуществляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали отличия при вероятности нулевой гипотезы об отсутствии различий $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования представлены на рисунке 1.

При анализе данных, полученных на 7-й день госпитализации, получены следующие корреляции: уровни HIF-2α имели средней силы отрицательные

связи с койко-днями и частотой сердечных сокращений (ЧСС); возраст — положительные связи с индексом коморбидности (сильная) и уровнем С-реактивного белка (СРБ) [средней силы]; индекс ROX — отрицательные связи средней силы с койко-днями и частотой дыхательных движений (ЧДД) [средняя]; показатели среднего артериального давления (АД) — положительные средней силы связи с ЧДД и уровнем глюкозы (рис. 1).

Взаимозависимость уровней HIF-2α и показателей ЧСС также может говорить в пользу предложенной роли HIF-2α. ЧСС повышается в состоянии

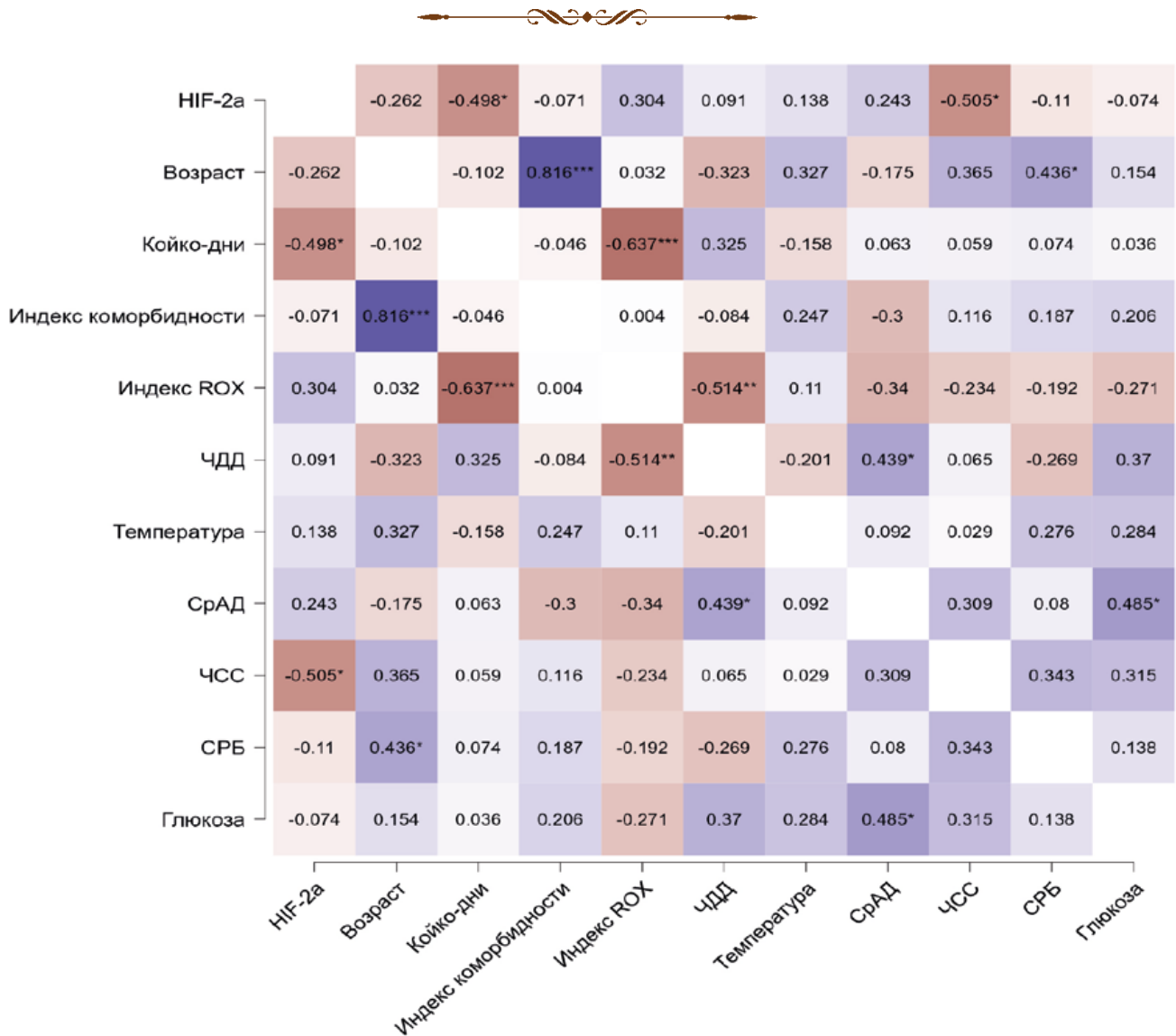


Рис. 1. Результаты корреляционного анализа на 7-й день госпитализации
The results of the correlation analysis on the 7th day of hospitalization

Примечание: HIF-2a — фактор, индуцируемый гипоксией 2 альфа; индекс ROX — Index to Predict Risk of Intubation — индекс, определяющий соотношение фракции кислорода во вдыхаемом воздухе к сатурации и частоте дыхания, ЧДД — частота дыхательных движений; СрАД — среднее артериальное давление, ЧСС — частота сердечных сокращений; СРБ — С-реактивный белок; статистические отличия обозначены как * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

острой гипоксии, требующем большей перфузии органов, что ассоциируется с более низкими показателями HIF-2a [14]. Положительная связь возраста и СРБ может быть объяснена тем, что более взрослые пациенты имеют больше хронических заболеваний, связанных с повышением СРБ сыворотки крови [12, 13, 15].

Низкие значения индекса ROX ассоциированы с более выраженной дыхательной недостаточностью, требующей более длительной госпитализации, что статистически подтверждается в приведённом анализе. Взаимосвязь АД с ЧДД — отражение патофизиологических процессов, возникающих при

гипоксии, которые вызывают повышение данных показателей [14–16].

ВЫВОДЫ

На 7-й день корреляционная связь между уровнем сывороточного HIF-2a и количеством койко-дней носила отрицательный характер средней силы, при этом так же была выявлена отрицательная связь с ЧСС средней силы. Обнаруженные взаимосвязи могут служить возможными предпосылками для исследования роли HIF-2a сыворотки крови как показателя, отражающего характер гипоксического состояния у пациентов с COVID-19 инфекцией.



Литература

1. Khan M. et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far // *Molecules*. — 2020. — Vol. 26, № 1. — P. 39. doi: 10.3390/molecules26010039
2. Фомин В.В., Роюк В.В., Решетников В.А., Волкова О.С., Коршевер Н.Г., Козлов В.В. Анализ внутрибольничной летальности у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) Клинического центра Сеченовского университета // *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. — 2023. — Т. 31. — №3. — С. 381-389. doi: 10.17816/PAVLOVJ569334
3. Serebrovska Z. O. et al. Hypoxia, HIF-1 α , and COVID-19: from pathogenic factors to potential therapeutic targets // *Acta Pharmacol Sin*. — 2020. — Vol. 41, № 12. — P. 1539–1546. doi: 10.1038/s41401-020-00554-8
4. Jana, S. et al. HIF-1 α -Dependent Metabolic Reprogramming, Oxidative Stress, and Bioenergetic Dysfunction in SARS-CoV-2-Infected Hamsters // *International journal of molecular sciences*. — 2022. — Vol. 24, №1. — P. 558. doi: 10.3390/ijms24010558
5. Jahani M., Dokaneheifard S., Mansouri K. Hypoxia: A key feature of COVID-19 launching activation of HIF-1 and cytokine storm // *Journal of Inflammation*. — 2020. — Vol. 17, № 1. — P. 33. doi: 10.1186/s12950-020-00263-3
6. Taylor C. T., Scholz C. C. The effect of HIF on metabolism and immunity // *Nature Reviews Nephrology*. — 2022. — Vol. 18, № 9. — P. 573–587. doi: 10.1038/s41581-022-00587-8
7. Jaśkiewicz M. et al. The transition from HIF-1 to HIF-2 during prolonged hypoxia results from reactivation of PHDs and HIF1A mRNA instability // *Cell Mol Biol Lett*. — 2022. — Vol. 27, № 1. — P. 109. doi: 10.1186/s11658-022-00408-7
8. Downes N. L. et al. Differential but Complementary HIF1 α and HIF2 α Transcriptional Regulation // *Molecular Therapy*. — 2018. — Vol. 26, № 7. — P. 1735–1745. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.05.004
9. Cai Y. et al. Serum Hypoxia-Inducible Factor 1 α Levels Correlate with Outcomes After Intracerebral Hemorrhage // *Therapeutics and Clinical Risk Management*. — 2021. — Vol 17. — P. 717–726. doi: 10.2147/TCRM.S313433
10. Eskiizmir G. et al. Serum hypoxia-inducible factor-2: A candidate prognostic biomarker for laryngeal cancer // *Clinical Otolaryngology*. — 2021. -Vol. 46, № 6. — P. 1172–1183. doi: 10.1111/coa.13789.
11. Altintop I. et al. The use of serum hypoxia-inducible factor two alpha levels and diagnostic values in adult carbon monoxide poisoning // *Med-Science*. — 2018. — P. 1. DOI:10.5455/MEDSCIENCE.2018.07.8780
12. Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Версия 10 (08.02.2021).
13. Divo M. J., Martinez C. H., Mannino D. M. Ageing and the epidemiology of multimorbidity // *Eur Respir J*. — 2014. — Vol. 44, № 4. — P. 1055–1068.
14. Chia C. W., Egan J. M., Ferrucci L. Age-Related Changes in Glucose Metabolism, Hyperglycemia, and Cardiovascular Risk // *Circ Res*. — 2018. — Vol. 123, № 7. — P. 886–904. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312806
15. Faulhaber M. et al. Heart rate and blood pressure responses during hypoxic cycles of a 3-week intermittent hypoxia breathing program in patients at risk for or with mild COPD // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. — 2015. — P. 339. doi: 10.2147/COPD.S75749
16. Филимонова А. А., Шурпо Е. М., Котляров С. Н., Булгаков А. А. Острые повреждения миокарда при COVID-19: виды, механизмы развития, критерии диагноза, прогноз // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. — 2022. — Т. 10, № 3. — С. 311–326. <https://doi.org/10.23888/HMJ2022103311-326>.

