

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2024.04.072>
УДК 616.379-008.64.98:616.15-074.5:577.112.6

М.Д. Тронько, <https://orcid.org/0000-0001-7421-0981>

В.В. Пушкаръов, <https://orcid.org/0000-0001-5940-5510>

О.І. Ковзун, <https://orcid.org/0000-0002-6906-6636>

Л.К. Соколова, <https://orcid.org/0000-0003-0011-0106>

Н.І. Левчук, <https://orcid.org/0000-0003-0482-5176>

В.М. Пушкаръов, <https://orcid.org/0000-0003-0347-7771>

ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України”, Київ, Україна
E-mail: pushkarev.vm@gmail.com

Вміст брадикініну у крові хворих на COVID-19 та цукровий діабет

Представлено членом-кореспондентом НАН України О.Г. Резніковим

Для пояснення причин гострого респіраторного синдрому, який виникає внаслідок інфікування коронавірусом-2 (SARS—CoV-2), висунуто дві гіпотези: теорія цитокинового і теорія брадикінінового шторму. Згідно з першою гіпотезою, підвищення рівня цитокінів, насамперед інтерлейкіну-6, спричиняє багатосистемні патологічні прояви COVID-19, зокрема гостре ураження легенів і респіраторний дистрес-синдром у тяжко хворих пацієнтів. Теорія брадикінінового шторму підкреслює важливість зниження кількості ангіотензин-перетворювальних ферментів у епітеліальних клітинах легенів, що призводить до нездатності розщеплювати брадикінін та аналог брадикініну des-Arg9-ВК. Мета роботи — порівняльне дослідження рівня брадикініну в крові хворих на цукровий діабет і пацієнтів, що перехворіли легкою та важкою формами COVID-19. Показано, що рівень брадикініну вірогідно зростає у хворих на діабет. У хворих на цукровий діабет і COVID-19 спостерігалось незначне зростання кількості брадикініну, що вірогідно не відрізнялося від показників у пацієнтів із цукровим діабетом. Водночас кількість інтерлейкіну-6 вірогідно зростала у хворих на цукровий діабет і найістотніше у пацієнтів із гострою формою COVID-19.

Ключові слова: коронавірусна інфекція, брадикінін, цукровий діабет.

Вступ. Досі немає чіткого розуміння причин гострого респіраторного синдрому, який виникає внаслідок інфікування коронавірусом 2 (SARS—CoV-2). Висунуто дві головні гіпотези для їх пояснення: теорія цитокинового шторму і теорія брадикінінового шторму

Цит у в а н н я: Тронько М.Д., Пушкаръов В.В., Ковзун О.І., Соколова Л.К., Левчук Н.І., Пушкаръов В.М. Вміст брадикініну у крові хворих на COVID-19 та цукровий діабет. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2024. № 4. С. 72—78. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2024.04.072>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2024. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

[1—3]. Відповідно до теорії цитокинового шторму, підвищення рівня цитокинів спричиняє багатосистемні патологічні прояви COVID-19 (coronavirus disease 2019), зокрема гостре ураження легенів і респіраторний дистрес-синдром у тяжко хворих пацієнтів. Новіша гіпотеза — теорія брадикінінового шторму акцентує на важливість зниження кількості ангіотензинперетворювальних ферментів (ACE та ACE2) в епітеліальних клітинах легенів, що призводить до нездатності розщеплювати брадикінін та його активний метаболіт — des-Arg9-ВК [2, 3]. Брадикінін є короткоживучою вазоактивною сполукою, яка діє як вазодилататор і медіатор запалення в різних сигнальних каскадах. Він входить до складу калікреїн-кінінової системи (KKS), що, в свою чергу, є складовою системи ренін—ангіотензин—альдостерон (RAAS), яка відіграє ключову роль у патогенезі COVID-19. Важкий гострий респіраторний синдром, зумовлений SARS-CoV-2, порушує KKS і RAAS, спричиняючи брадикініновий шторм — процес, що призводить до посилення експресії брадикініну та подальших ефектів, опосередкованих його сигналінгом [1—7]. Також є низка актуальних проблем, пов'язаних з найоптимальнішими способами лікування пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) — найбільш уразливої та масштабної категорії хворих, як під час коронавірусної пандемії, так і в постковідному періоді [8].

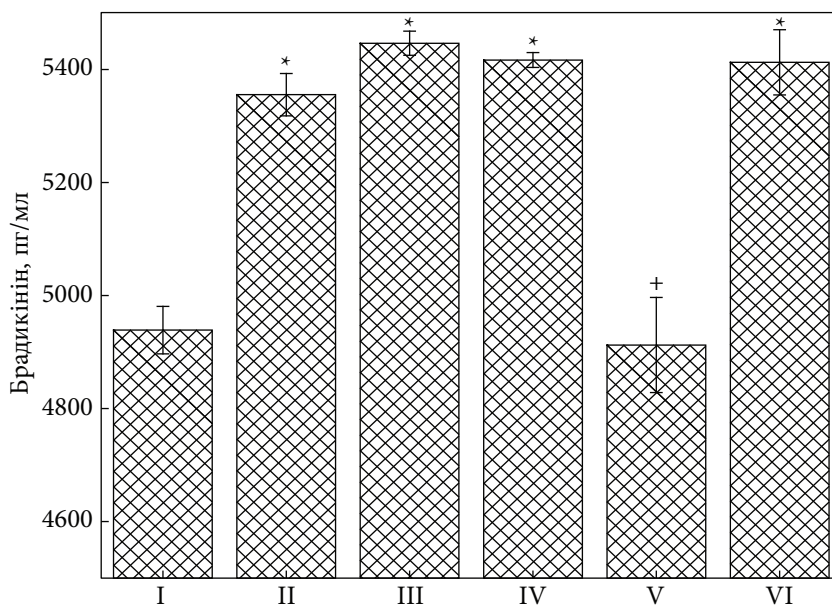
Мета дослідження — порівняння рівня брадикініну в крові хворих на ЦД, хворих на ЦД, що перенесли COVID-19 у легкій або важкій формах, і у пацієнтів, що хворіють на гостру форму COVID-19.

Матеріали та методи. Дослідження виконано у відділах фундаментальних і прикладних проблем ендокринології та діабетології ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України”. Протокол дослідження було затверджено Комісією з питань біоетики Інституту. Усі пацієнти підписали інформовану згоду на використання їхніх біоматеріалів для подальшого діагностичного та наукового дослідження.

Кров отримували за допомогою стандартної венепункції і зберігали в пробірках з етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА). Плазму відокремлювали центрифугуванням протягом 10 хв після забору крові. Зразки зберігали за температури $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до використання. Концентрацію брадикініну ($n = 70$) визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу ab136936 (“Abscam”, Велика Британія), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) ($n = 36$) — за допомогою наборів ЕН2ІІ6 (“Invitrogen”, Австрія). Вимірювання виконували за довжини оптичної хвилі 450 нм на імуноферментному планшетному аналізаторі “Stat Fax 3200” (“Awareness Technology”, США). Концентрацію брадикініну та ІЛ-6 у плазмі крові виражали в пікограмах на мілілітр.

Для статистичного аналізу і подання даних застосовували програмне забезпечення Origin 7.0. Результати дослідження наведено у вигляді середнього арифметичного і його стандартної похибки ($M \pm m$). Для порівняння груп даних використовували t -тест Стьюдента. Значення $p < 0,05$ вважали значущими.

Результати та їх обговорення. У дослідженні брали участь 70 хворих на ЦД та COVID-19. Контролем (I група) були особи без ЦД, які не хворіли на COVID-19 ($n = 8$). Обстежені пацієнти були розподілені на групи: хворі на ЦД (II група), хворі на ЦД, які перенесли COVID-19 у легкій (III група) і важкій формі (IV група), хворі на гострий COVID-19 без ЦД або з ЦД тривалістю до 5 років (V група), хворі на гострий COVID-19 з ЦД тривалістю понад 10 років (VI група).



Концентрація брадикініну у хворих на ЦД і COVID-19. I — контроль ($n = 8$); II — хворі на ЦД ($n = 10$); III — хворі на ЦД, які перенесли COVID-19 у легкій формі ($n = 19$); IV — хворі на ЦД, які перенесли COVID-19 у важкій формі ($n = 20$); V — хворі на гострий COVID-19 без ЦД, з вперше виявленим ЦД або з ЦД тривалістю до 5 років ($n = 9$); VI — хворі на гострий COVID-19 з ЦД тривалістю понад 10 років ($n = 12$). * — відмінності від контролю (група I) вірогідні, $P < 0,05$; + — відмінності між групами V і VI вірогідні, $P < 0,05$

Рівень брадикініну вірогідно зростав у хворих на ЦД (рисунок, II). У хворих на ЦД, які перенесли COVID-19, спостерігалось незначне додаткове зростання концентрації брадикініну (див. рисунок, III, IV), різниці між показниками у пацієнтів, які перехворіли на легку і важку форму COVID-19, не виявлено.

Отже, зростання рівня брадикініну в умовах нашого дослідження визначається переважно захворюванням на ЦД. Це можна пояснити тим, що в сучасних настановах рекомендовано застосування інгібіторів ACE / блокаторів рецепторів ангіотензину II типу 1 (іACE / ARB) для пацієнтів із супутніми серцево-судинними патологіями, але є припущення щодо підвищення рівня брадикініну і тяжкості перебігу COVID-19 у разі використання деяких препаратів. Зокрема, терапія із застосуванням інгібіторів пептидази, таких як іACE та інгібітори неприлізину, спричиняє підвищення концентрації брадикініну [9]. Тому для підтримки нормального артеріального тиску організм повинен збалансувати рівні ACE і ACE2. Оскільки коронавірус прикріплюється до рецептора ангіотензину на поверхні клітини і зумовлює підвищення синтезу ACE2, потрапляючи за допомогою цієї молекули в клітину, а далі — зниження активності ACE2, вважається, що це спричиняє значне збільшення концентрації брадикініну (брадикініновий шторм) і критичні ускладнення, особливо у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, які приймають іACE для регулювання тиску. Наявні натепер ARB (сартани) здатні блокувати цей патологічний процес. Сартани можуть сприяти інгібуванню RAAS ефективніше, ніж іACE. При цьому вони не пригнічують ACE з подальшим утворенням надлишкового брадикініну і не спричиняють розвиток брадикінінового шторму.

Цікаво, що у хворих на гострий COVID-19 без ЦД, із вперше виявленим ЦД або з ЦД тривалістю до 5 років рівень брадикініну знижувався до контрольного (див. рисунок, V) на відміну від пацієнтів з ЦД тривалістю понад 10 років (див. рисунок, VI). При цьому кількість моноцитів крові зростала з $5,4 \pm 0,36$ % у перших до $8,83 \pm 0,59$ % у других, що свідчить про розвиток запальних процесів, напевно, зумовлених ЦД та вірусною інфекцією.

Теорія цитокинового шторму, який є неконтрольованою запальною реакцією, пов'язана з інтерлейкіном-6 (IL-6), що бере участь в імунних реакціях, процесах запалення, а також у розвитку цитокинового шторму за перебігу COVID-19. IL-6 і транскрипційні фактори: ядерний фактор каппа В (NF- κ B), перетворювач сигналу та активатор транскрипції 3 (STAT3), є головними факторами, які "розганяють" цитокиновий шторм. Синергічні взаємодії між NF- κ B і STAT3 індукують гіперактивацію NF- κ B з подальшою продукцією запальних цитокинів. Оскільки IL-6 є мішенню NF- κ B, одночасна активація NF- κ B і STAT3 у неімунних клітинах спричиняє формування петлі позитивного зворотного зв'язку активації NF- κ B віссю IL-6/STAT3. Цей позитивний зворотний зв'язок називається підсилювачем IL-6 (IL-6-Ampl). IL-6-Ampl активується різними локальними ініціаторами, демонструючи, що вісь IL-6/STAT3 є критичною мішенню для лікування захворювань [1, 10].

Згідно з результатами досліджень, рівень IL-6 становив $0,89 \pm 0,01$ пг/мл у здорових осіб, $0,97 \pm 0,06$ у хворих на ЦД, зростав до $1,1 \pm 0,04$ у пацієнтів з ЦД, які перехворіли на COVID-19, і майже втричі — до $2,56 \pm 0,67$ пг/мл — у хворих на гостру форму COVID-19.

Брадикінін є потужним короткоживучим вазоактивним пептидом, який входить до складу KKS, що пов'язана з реакцією запалення і опосередковує різні функції проникності судин, такі як тромбоз та згортання крові. Брадикінін індукує вазодилатацію в системі периферичного кровообігу шляхом зниження тону гладкої мускулатури артерій і збільшення кровотоку [1, 2, 4–7]. Крім того, він ініціює екстравазацію плазми через вплив на ендотелій капілярів і вазоконстрикцію шляхом індукції гладком'язових волокон вен. Під час запальних станів, таких як астма, він сприяє руху клітин від крові до тканин і активує тучні клітини, фібробласти, макрофаги та гладку мускулатуру органів [11]. Передача сигналів, опосередкована брадикініном, також пов'язана з васкулопатією, ожирінням, нейропатією, діабетом, раком та хронічним болем [8, 12, 13]. Дослідження T.N. Turnic зі співавт. підтверджує гіпотезу брадикінінового шторму [3]. Оскільки підвищений рівень брадикініну було виявлено в більшості випадків COVID-19 із летальним наслідком, майбутні терапевтичні стратегії щодо COVID-19 мають бути зосереджені на зниженні концентрації брадикініну в сироватці крові. Водночас отримані нами результати свідчать більше на користь теорії цитокинового шторму, ніж брадикінінового, можливо, за рахунок специфіки лікування хворих з використанням комплексу інгібіторів ACE / блокаторів рецепторів ангіотензину II типу 1.

Висновок. Зростання рівня брадикініну в крові хворих на ЦД з COVID-19 визначається насамперед захворюванням на ЦД. У хворих з гострою формою COVID-19 рівень прозапального цитокіну IL-6 зростав майже втричі порівняно з контролем.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Цимбалюк В.І., Тронько М.Д., Попова В.В., Ковзун О.І., Орленко В.Л., Пушкарьов В.М., Соколова Л.К., Пушкарьов В.В. COVID-19 та ендокринна система. Біла Церква: Час Змін Інформ, 2023. 556 с.
2. Пушкарьов В.М., Ковзун О.І., Левчук Н.І., Пушкарьов В.В., Соколова Л.К., Тронько М.Д. Роль брадикиніну у розвитку COVID-19 та інших захворювань. *Ендокринологія*. 2023. **28**, № 4. С. 349—362. <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2023.28-4.349>
3. Turnic T.N., Popadic V., Klasnja S., Sekulic A., Nikolic N., Zivkovic V., Jeremic N., Andjic M., Draginic N., Srejovic I., Jeremic J., Zdravkovic M., Jakovljevic V. Bradykinin and galectin-3 in survived and deceased patients with COVID-19 pneumonia: an increasingly promising biochemical target. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2022. **2022**. 7920915. <https://doi.org/10.1155/2022/7920915>
4. Wilczynski S.A., Wenceslau C.F., McCarthy C.G., Webb R.C. A cytokine/bradykinin storm comparison: what is the relationship between hypertension and COVID-19? *Am. J. Hypertens*. 2021. **34**, № 4. P. 304—306. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpaa217>
5. Cooper S.L., Boyle E., Jefferson S.R., Heslop C.R.A., Mohan P., Mohanraj G.G.J., Sidow H.A., Tan R.C.P., Hill S.J., Woolard J. Role of the renin-angiotensin-aldosterone and kinin-kallikrein systems in the cardiovascular complications of COVID-19 and long COVID. *Int. J. Mol. Sci*. 2021. **22**, № 15. 8255. <https://doi.org/10.3390/ijms22158255>
6. Rex D.A.B., Vaid N., Deepak K., Dagamajalu S., Prasad T.S.K. A comprehensive review on current understanding of bradykinin in COVID-19 and inflammatory diseases. *Mol. Biol. Rep*. 2022. **49**, № 10. P. 9915—9927. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07539-2>
7. Rex D.A.B., Deepak K., Vaid N., Dagamajalu S., Kandasamy R.K., Flo T.H., Keshava Prasad T.S. A modular map of bradykinin-mediated inflammatory signaling network. *J. Cell Commun. Signal*. 2022. **16**, № 2. P. 301—310. <https://doi.org/10.1007/s12079-021-00652-0>
8. Hoevenaar M., Goossens D., Roorda J. Angiotensin-converting enzyme 2, the complement system, the kallikrein-kinin system, type-2 diabetes, interleukin-6, and their interactions regarding the complex COVID-19 pathophysiological crossroads. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2020. **21**, № 4. 1470320320979097. <https://doi.org/10.1177/1470320320979097>
9. Campbell D.J. Nephilysin inhibitors and bradykinin. *Front. Med. (Lausanne)*. 2018. **5**. 257. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00257>
10. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int. Immunol*. 2021. **33**, № 3. P. 127—148. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
11. Sharma J.N. Basic and clinical aspects of bradykinin receptor antagonists. *Prog. Drug Res*. 2014. **69**. P. 1—14. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06683-7_1
12. Dagnino A.P.A., Campos M.M., Silva R.B.M. Kinins and their receptors in infectious diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020. **13**, № 9. 215. <https://doi.org/10.3390/ph13090215>
13. Lau J., Rousseau J., Kwon D., Bénard F., Lin K.-S. A systematic review of molecular imaging agents targeting bradykinin B1 and B2 receptors. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020. **13**, № 18. 199. <https://doi.org/10.3390/ph13080199>

Надійшло до редакції 24.04.2024

REFERENCES

1. Tsybalyuk, V. I., Tronko, M. D., Popova, V. V., Kovzun, O. I., Orlenko, V. L., Pushkarev, V. M., Sokolova, L. K. & Pushkarev, V. V. (2023). COVID-19 and endocrine system. Bila Tserkva: Chas Zmin Inform (in Ukrainian).
2. Pushkarev, V. M., Kovzun, O. I., Levchuk, N. I., Pushkarev, V. V., Sokolova, L. K. & Tronko, M. D. (2023). The role of bradykinin in the development of COVID-19 and other diseases. *Endokrynologia*, 28, No. 4, pp. 349-362 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2023.28-4.349>
3. Turnic, T. N., Popadic, V., Klasnja, S., Sekulic, A., Nikolic, N., Zivkovic, V., Jeremic, N., Andjic, M., Draginic, N., Srejovic, I., Jeremic, J., Zdravkovic, M. & Jakovljevic, V. (2022). Bradykinin and galectin-3 in survived and deceased patients with COVID-19 pneumonia: an increasingly promising biochemical target. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2022, 7920915. <https://doi.org/10.1155/2022/7920915>
4. Wilczynski, S. A., Wenceslau, C. F., McCarthy, C. G. & Webb, R. C. (2021). A cytokine/bradykinin storm comparison: what is the relationship between hypertension and covid-19? *Am. J. Hypertens.*, 34, No. 4, pp. 304-306. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpaa217>
5. Cooper, S. L., Boyle, E., Jefferson, S. R., Heslop, C. R. A., Mohan, P., Mohanraj, G. G. J., Sidow, H. A., Tan, R. C. P., Hill, S. J. & Woolard J. (2021). Role of the renin-angiotensin-aldosterone and kinin-kallikrein systems in the cardiovascular complications of COVID-19 and long COVID. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, No. 15, 8255. <https://doi.org/10.3390/ijms22158255>
6. Rex, D. A. B., Vaid, N., Deepak, K., Dagamajalu, S. & Prasad, T. S. K. (2022). A comprehensive review on current understanding of bradykinin in COVID-19 and inflammatory diseases. *Mol Biol Rep.*, 49, No. 10, pp. 9915-9927. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07539-2>
7. Rex, D. A. B., Deepak, K., Vaid, N., Dagamajalu, S., Kandasamy R. K., Flo T. H. & Keshava Prasad, T. S. (2021). A modular map of bradykinin-mediated inflammatory signaling network. *J. Cell Commun. Signal.*, 16, No. 2, pp. 301-310. <https://doi.org/10.1007/s12079-021-00652-0>
8. Hoevenaar, M., Goossens, D. & Roorda, J. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2, the complement system, the kallikrein-kinin system, type-2 diabetes, interleukin-6, and their interactions regarding the complex COVID-19 pathophysiological crossroads. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 21, No. 4, 147032032097909. <https://doi.org/10.1177/1470320320979097>
9. Campbell, D. J. (2018). Nephilysin inhibitors and bradykinin. *Front. Med. (Lausanne)*, 5, 257. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00257>
10. Hirano, T. (2021). IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int. Immunol.*, 33, No. 3, pp. 127-148. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
11. Sharma, J. N. (2014). Basic and clinical aspects of bradykinin receptor antagonists. *Prog. Drug Res.*, 69, pp. 1-14. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06683-7_1
12. Dagnino, A. P. A., Campos, M. M. & Silva, R. B. M. (2020). Kinins and their receptors in infectious diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13, No. 9, 215. <https://doi.org/10.3390/ph13090215>
13. Lau, J., Rousseau, J., Kwon, D., Bénard, F. & Lin, K.-S. (2020). A systematic review of molecular imaging agents targeting bradykinin B1 and B2 receptors. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13, No. 8, 199. <https://doi.org/10.3390/ph13080199>

Received 24.04.2024

M.D. Tronko, <https://orcid.org/0000-0001-7421-0981>

V.V. Pushkarev, <https://orcid.org/0000-0001-5940-5510>

O.I. Kovzun, <https://orcid.org/0000-0002-6906-6636>

L.K. Sokolova, <https://orcid.org/0000-0003-0011-0106>

N.I. Levchuk, <https://orcid.org/0000-0003-0482-5176>

V.M. Pushkarev, <https://orcid.org/0000-0003-0347-7771>

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

E-mail: pushkarev.vm@gmail.com

BRADYKININ CONTENT IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH COVID-19 AND DIABETES MELLITUS

Two hypotheses have been proposed to explain the causes of acute respiratory syndrome resulting from coronavirus-2 (SARS-CoV-2) infection: the cytokine storm theory and the bradykinin storm theory. From the first perspective, elevated levels of cytokines, primarily interleukin-6, cause the multisystem pathologic manifestations of COVID-19, including acute lung injury and respiratory distress syndrome in critically ill patients. The bradykinin storm theory emphasizes the importance of decreased levels of angiotensin-converting enzymes in lung epithelial cells, resulting in an inability to cleave bradykinin and the bradykinin analog des-Arg⁹-BK. The aim of the work was a comparative study of bradykinin levels in the blood of patients with diabetes mellitus and patients with mild and severe forms of COVID-19. It was shown that bradykinin levels were significantly increased in patients with diabetes mellitus. Patients with diabetes and COVID-19 showed a slight increase in bradykinin levels, which was not significantly different between diabetic patients and COVID-19 patients. In contrast, interleukin-6 was significantly increased in patients with diabetes and especially in patients with acute COVID-19.

Keywords: *coronavirus infection, bradykinin, diabetes.*