

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
Міністерство охорони здоров'я України
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МАТВІЙЧУК АНТОН РОМАНОВИЧ

УДК

616.379-008.64:[616.98:578.834]-036.8-008.6-036.1

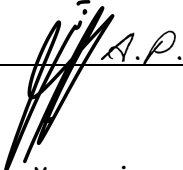
ДИСЕРТАЦІЯ

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТА ПРЕДИКТОРИ ВАЖКОСТІ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ

222-Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22
«Охорона здоров'я»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 А.Р. Матвійчук

Науковий керівник: Кобиляк Назарій Миколайович, доктор медичних наук,
професор.

Київ – 2025

АНОТАЦІЯ

Матвійчук А.Р. Особливості перебігу та предиктори важкості постковідного синдрому у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222-Медицина. – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2025.

Робота присвячена вивченню особливостей перебігу, визначенню предикторів розвитку та важкості постковідного синдрому (ПКС) у пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу.

Мета дослідження – науково обґрунтувати та розробити стратегію своєчасної діагностики та прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Дисертаційна робота проведена в 2 етапи і включала ретроспективний аналіз та одномоментне дослідження по типу «випадок-контроль». Загалом у ретроспективному етапі дослідженні взяли участь 469 пацієнтів з різних регіонів України. З поміж них 227 пацієнтів повідомили про розвиток ПКС (основна група), водночас 242 пацієнти не заявляли про симптоми ПКС (група порівняння). Для вибору незалежних факторів ризику розвитку ПКС використовували багатофакторний логістичний регресійний аналіз та ймовірнісну нейронну мережу (probabilistic neural network; PNN).

На основі даних опитування було обрано 8 незалежних факторів, асоційованих з ризиком розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу за моделями логістичної регресії та PNN. В результаті селекції було відібрано наступні фактори: вперше діагностований ЦД 2-го типу (ВШ 4,86; 95% ДІ 2,55 – 9,28; $p < 0,001$), жіноча стать (ВШ 1,29; 95% ДІ 0,86 – 1,94; $p = 0,220$), тяжкість COVID-19 (ВШ 1,35 95% ДІ 1,05 – 1,70; $p = 0,018$), наявність інфаркту міокарда (ВШ 2,42 95% ДІ 1,26 – 4,64; $p = 0,002$) та інсульту (ВШ 3,68 95% ДІ 1,70 – 7,96; $p = 0,001$) в анамнезі, HbA1c вище 9,2% (ВШ 2,17 95% ДІ 1,37 –

3,43; $p=0,001$), використання аналогів інсуліну (ВШ 2,28 95% ДІ 1,31 – 3,94; $p=0,003$) порівняно з людським інсуліном (ВШ 0,67 95% СІ 0,39 – 1,15; $p=0,146$). Згідно з ROC аналізом 8-факторна MLP (multilayer perceptron) модель продемонструвала вищу діагностичну цінність (AUC 0,808; 95% ДІ 0,770–0,843), що дозволило прогнозувати ризик розвитку ПКС з чутливістю 71,4%, специфічністю 76%, PPV 73,6% та NPV 73,9%.

В суб-аналізі пацієнтів основної групи, встановлено, що коморбідне ожиріння посилює тяжкість перебігу гострої інфекції COVID-19, але не впливає на розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Вперше виявлений ЦД 2-го типу, який діагностований під час або після гострої фази COVID-19, частіше спостерігається в осіб із нормальною/надмірною вагою та характеризується більш агресивним перебігом порівняно з відповідними пацієнтами із початком ЦД 2-го типу до перенесеної COVID-19 інфекції.

Для оцінки діагностичної цінності та асоціативних взаємозв'язків між розвитком ПКС та довжиною теломер було проведено перехресне дослідження із включенням 68 пацієнтів з ЦД 2-го типу після COVID-19. Пацієнти були розділені на 2 групи залежно від розвитку ПКС: група ПКС ($n=46$) та пацієнти, у яких не розвинувся ПКС ($n=22$) протягом 6 місяців після інфікування COVID-19. Для визначення відносної довжини теломер використовувався стандартизований метод, запропонований Sawthon et al. Ми розробили ряд моделей для прогнозування ПКС з використанням інструментів машинного навчання (machine learning; ML). Моделі пройшли випробування з використанням підходу перехресної валідації, а також була проведена внутрішня валідація.

Ми спостерігали статистично значуще нижчу середню довжину теломер у пацієнтів з ЦД 2-го типу з ПКС порівняно з тими, хто не мав ПКС ($1,1\pm0,2$ та $1,28\pm0,24$; $p=0,003$). У субаналізі коротші теломери спостерігалися у жінок та пацієнтів старшого віку в обох групах. Середня довжина теломер достовірно не відрізнялася між клінічними фенотипами ПКС ($p=0,481$).

Найкращою моделлю, створеною для прогнозування ПКС, була модель градієнтного бустингу (Gradient Boosting Model; GBM) з AUROC – 0,753. Найвпливовіші змінні перших 10 моделей складають: довжина теломер, показники HbA1c, вітаміну D₃, ОТ, аполіпопротеїн A1, вч-СРБ, аполіпопротеїн В, тяжкість перебігу COVID-19, тривалість ЦД 2-го типу, ІЛ-6, загальний холестерин, ІМТ та вік. Довжина теломер і HbA1c демонструють значно більший вплив порівняно з іншими параметрами.

Укорочення довжини теломер прискорює біологічне старіння і разом з підвищенням HbA1c збільшує ризик розвитку ПКС. Таким чином було визначено, що довжина теломер та HbA1c значною мірою пов'язані з розвитком ПКС в осіб з ЦД 2-го типу, що свідчить про потенціал показників довжини теломер як прогностичних біомаркерів.

Для визначення зв'язку між рівнями мітохондріальної ДНК (мтДНК) у лейкоцитах крові та розвитком ПКС у хворих на ЦД 2-го типу з урахуванням клінічного фенотипу, статі та біологічного віку було відібрано 65 хворих на ЦД 2-го типу. Пацієнти були розділені на 2 групи залежно від наявності ПКС: група ПКС (основна група; n=44) та пацієнти, у яких не розвивався ПКС (група порівняння; n=21) протягом 6 місяців після інфікування COVID-19. Для вимірювання вмісту мтДНК у лейкоцитах периферичної крові використовували стандартизований метод полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (кількісна ПЛР, qPCR). Ми створили кілька моделей для прогнозування ПКС з використанням багатофакторного логістичного регресійного аналізу та інструментів машинного навчання.

Встановлено значно нижчий вміст мтДНК у пацієнтів з ЦД 2-го типу з ПКС, ніж у пацієнтів без ПКС ($1,26 \pm 0,25$ проти $1,44 \pm 0,24$; $p=0,011$). У гендерно-обумовленому та віковому аналізі кількість мтДНК статистично значуще не відрізнялася між підгрупами. При порівняльній оцінці клінічних фенотипів ПКС достовірної різниці у вмісті мтДНК не виявлено ($p=0,572$). За даними покрокового багатовимірної логістичного регресійного аналізу, низький вміст мтДНК асоційований з розвитком ПКС, незалежно від кисневої,

глюкокортикоїдної терапії та тяжкості COVID-19. У моделі 4 киснева підтримка в гострій фазі COVID-19, поточний дефіцит вітаміну D₃ та низький рівень мтДНК були пов'язані з ПКС (Nagelkerke R²=0,316).

Згідно аналізу машинного навчання найефективнішою моделлю для прогнозування ПКС була GBM з AUROC – 0,811. HbA1c і мтДНК мали помітно більший вплив, ніж інші змінні. Ця модель ефективно виявляла пацієнтів з більшим ризиком розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Таким чином, було виявлено, що HbA1c та мтДНК значною мірою пов'язані з розвитком ПКС в осіб з ЦД 2-го типу, що вказує на потенціал HbA1c та мтДНК як прогностичних біомаркерів. Прогностичним біомаркером розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу можна вважати вміст мтДНК з граничним значенням $\leq 1,62$.

Застосування вказаних результатів у практику дозволить провести вчасну діагностику пацієнтів, визначити прогностичні критерії та попередити прогресування ПКС у людей із ЦД 2-го типу.

Результати нашого дослідження можуть слугувати теоретичною основою для науково обґрунтованих практичних рекомендацій, що дозволить провести вчасну діагностику пацієнтів, визначити прогностичні критерії та попередити прогресування ПКС у людей із ЦД 2-го типу. Використання розроблених діагностичних підходів в дисертаційній роботі дозволить покращити комплексну терапію ЦД 2-го типу з застосуванням підходу в галузі персоналізованої медицини при розробці індивідуальної схеми лікування кожного пацієнта із ПКС в анамнезі. Результати дисертаційного дослідження можуть використовуватись у загальній лікарській практиці ендокринологами, інфекціоністами, сімейними лікарями, терапевтами.

Результати дослідження впроваджено у клінічну практику КНП «Київського міського клінічного ендокринологічного центру» та Інституту геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України і використовуються у лекційному курсі для студентів медичних факультетів, лікарів-інтернів,

практичних лікарів та під час практичних занять на кафедрі ендокринології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, ожиріння, інсулінорезистентність, постковідний синдром, довготривалий COVID, COVID-19, теломери, мітохондріальна ДНК.

SUMMARY

Matviichuk A.R. Peculiar features of the disease course and the predictors of severity of post-COVID-19 syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. – Manuscript.

Thesis for a PhD Degree in Speciality 222 – Medicine. – Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2025.

This thesis describes the peculiar features of course and determines the predictors of development and severity of post-COVID-19 syndrome (PCS) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2D).

The purpose of the study is to scientifically substantiate and develop a strategy for timely diagnosis and prognosis of the development of PCS in patients with type 2 diabetes.

The research was carried out in 2 stages and included a retrospective analysis and a case-control study. In total, 469 patients from different regions of Ukraine took part in the retrospective stage of the study. Among them, 227 patients reported the development of PCS (main group), whereas 242 patients did not claim PCS symptoms (comparison group). Stepwise multivariate logistic regression and probabilistic neural network (PNN) models were used to select independent risk factors for the development of PCS.

Based on the survey data, 8 independent factors associated with the risk of developing PCS in patients with type 2 diabetes were selected according to logistic regression and PNN models. As a result of selection, the following factors were picked: newly diagnosed T2D (OR 4.86; 95% CI 2.55 – 9.28; $p < 0.001$), female gender (OR 1.29; 95% CI 0.86 – 1.94; $p = 0.220$), severity of COVID-19 (OR 1.35; 95% CI 1.05 – 1.70; $p = 0.018$), myocardial infarction (OR 2.42; 95% CI 1.26 – 4.64; $p = 0.002$) and stroke (OR 3.68; 95% CI 1.70 – 7.96; $p = 0.001$) in anamnesis, HbA1c above 9.2% (OR 2.17; 95% CI 1.37 – 3.43; $p = 0.001$), the use of insulin analogues (OR 2.28; 95% CI 1.31 – 3.94; $p = 0.003$) compared to human insulin (OR 0.67; 95% CI 0.39 – 1.15; $p = 0.146$). According to the ROC curve analysis, the 8-factor multilayer perceptron (MLP) model demonstrated a higher diagnostic value (AUC

0.808; 95% CI 0.770–0.843), which made it possible to predict the risk of PCS development with a sensitivity of 71.4%, specificity of 76%, PPV of 73.6% and NPV of 73.9%.

In the sub-analysis of patients in the main group, it was found that comorbid obesity increases the severity of acute COVID-19 infection, but it does not affect the development of PCS in patients with T2D.

Newly diagnosed T2D determined during or after the acute phase of COVID-19 is more common in normal/overweight individuals and is characterised by a more aggressive course compared to eligible patients with onset of T2D prior to COVID-19 infection.

To assess the diagnostic value and associative relationships between PCS development and telomere length, a cross-sectional study was conducted involving 68 patients with T2D after COVID-19. The patients were divided into 2 groups depending on the development of PCS: PCS group (n=46) and patients who did not develop PCS (n=22) within 6 months of COVID-19 infection. To determine the relative length of telomeres, a standardized method proposed by Cawthon et al. was used. A range of models for predicting PCS were developed using machine learning tools (ML). The models were tested using a cross-validation approach, and internal validation was also performed.

A significantly lower mean telomere length in patients with T2D with PCS compared to those without PCS (1.1 ± 0.2 and 1.28 ± 0.24 ; $p=0.003$) was observed. In the sub-analysis, shorter telomeres were observed in women and older patients in both groups. The mean telomere length didn't differ significantly among clinical phenotypes of PCS ($p=0.481$). The best model generated for PCS prediction was the gradient boosting machine (GBM) (AUC=0.753). The most influential variables across the top 10 models include telomere length, HbA1c, vitamin D₃, waist circumference, ApoA1, C-reactive protein, ApoB, COVID-19 severity, duration of T2D, IL-6, cholesterol, BMI, and age. Telomere length and HbA1c showed a significantly higher impact compared to other parameters.

The research reveals that shortening telomere length accelerates biological aging and, together with an increase in HbA1c, increases the risk of PCS development. Thus, it has been determined that telomere length and HbA1c are tightly connected to the development of PCS in individuals with T2D, suggesting the potential of telomere length indicators as predictive biomarkers.

To determine the relationship between mitochondrial DNA (mtDNA) levels in blood leukocytes and the development of PCS in patients with T2D, regarding clinical phenotype, gender and biological age, 65 patients with T2D were selected. The patients were divided into 2 groups depending on the presence of PCS: PCS group (main group; n=44) and those patients who did not develop PCS (comparison group; n=21) within 6 months of COVID-19 infection. To measure the mtDNA content in peripheral blood leukocytes, a standardized method of real-time polymerase chain reaction (quantitative PCR, qPCR) was used. Several models for predicting PCS were created using multivariate logistic regression analysis and machine learning tools.

The study determines that there is a significantly lower mtDNA content in T2D patients with PCS than in patients without PCS (1.26 ± 0.25 versus 1.44 ± 0.24 ; $p=0.011$). In gender-based and age-related analysis, the amount of mtDNA did not differ significantly between subgroups. In the comparative assessment of PCS clinical phenotypes, a significant difference in mtDNA content was not found ($p=0.572$). According to the stepwise multivariate logistic regression analysis, a low mtDNA content was independent variable associated with PCS development, regardless of oxygen, glucocorticoid therapy and COVID-19 severity. In model 4, oxygen support in the acute phase of COVID-19, current vitamin D₃ deficiency and a low mtDNA level were connected to PCS (Nagelkerke $R^2=0,316$).

According to the machine learning analysis, the most effective model for predicting PCS was the gradient boosting machine (GBM), with an AUROC of 0.811. HbA1c and mtDNA had a markedly greater impact than other variables. This model effectively identified patients at a greater risk of developing PCS.

The research demonstrates that HbA1c and mtDNA are significantly connected to the development of PCS in individuals with T2D, indicating the potential of HbA1c and mtDNA as predictive biomarkers. A prognostic biomarker for the development of PCS in patients with T2D has been considered the mtDNA content with a cut-off value of ≤ 1.62 .

Implementation of this research's results will allow to timely diagnose patients, determine prognostic criteria and prevent progressive development of PCS in people with T2D.

This thesis' conclusions can serve a theoretical basis for scientifically determined practical recommendations, which will allow to timely diagnose patients, determine prognostic criteria and prevent progressive development of PCS in people with T2D. The use of the diagnostic approaches developed in the thesis will improve a complex therapy of T2D using the approach in the field of personalized medicine while developing an individual treatment regimen for each patient with PCS in anamnesis. The results of this research can be used in general medical practice by endocrinologists, infectious disease therapists, family doctors, and general practitioners.

The results of the research have been implemented in clinical practice in the Kyiv City Clinical Endocrinology Centre and D. F. Chebotarev Institute of Gerontology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine and are also used in the academic lecture course for students of medical faculties, interns, practitioners and during practical classes at the Department of Endocrinology of Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Key words: type 2 diabetes, obesity, insulin resistance, post-COVID syndrome, long COVID, COVID-19, telomeres, mitochondrial DNA.

Список публікацій здобувача:

Статті у іноземних виданнях, що цитуються у науково-метричних Scopus та Web of science

1. Matviichuk A, Yerokhovych V, Ilkiv Y, Krasnienkov D, Korcheva V, Gurbych O, Shcherbakova A, Botsun P, Falalyeyeva T, Sulaieva O, Kobyliak N (2024) HbA1c and leukocyte mtDNA levels as major factors associated with post-COVID-19 syndrome in type 2 diabetes patients. Sci Rep, 14, 25533, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77496-2> *(Дисертантом проведено відбір, загально-клінічне обстеження, збір біохімічних показників, статистична обробка даних, аналіз літератури з даної проблеми, написання та підготовка статті до друку, узагальнення результатів).*

2. Matviichuk A, Yerokhovych V, Zemskov S, Ilkiv Y, Gurianov V, Shaienko Z, Falalyeyeva T, Sulaieva O, Kobyliak N (2024) Unveiling Risk Factors for Post-COVID-19 Syndrome Development in People with Type 2 Diabetes. Front. Endocrinol, 15, 1459171, <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1459171>. *(Дисертантом проведено відбір, опитування, загально-клінічне обстеження, збір біохімічних показників, статистична обробка даних, аналіз літератури з даної проблеми, написання та підготовка статті до друку, узагальнення результатів).*

Тези наукових доповідей

3. Matviichuk A, Gurianov V, Yerokhovych V, Livkutnyk O, Falalyeyeva T, Komisarenko I, Sulaieva O, Kobyliak N (2024) Prediction of post-COVID syndrome development in type 2 diabetes: retrospective analysis based on national survey in Ukraine. 26th European Congress of Endocrinology, Stockholm, Sweden, May 11-14, 2024, Endocrine Abstracts, 2024, 99, EP279, <https://doi.org/10.1530/endoabs.99.EP279>.

4. Ilkiv E, Matviichuk A, Yerokhovych V, Krasnenkov D, Korcheva V, Falalyeyeva T, Botsun P, Sulaieva O, Komisarenko I, Kobyliak N (2024) Low mitochondrial DNA is associated with post-COVID-19 syndrome in patients with type 2 diabetes. 11th ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES) Meeting,

Sep 6-8, 2024, Helsinki, Finland, Endocrine Abstracts, 102: 66, <https://doi.org/10.1530/endoabs.102.66>.

5. Yerokhovych V, Matviichuk A, Ilkiv E, Krasnenkov D, Korcheva V, Falalyeyeva T, Botsun P, Sulaieva O, Komisarenko I, Kobyliak N (2024) Long COVID is associated with accelerated aging in type 2 diabetes patients. 11th ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES) Meeting, Sep 6-8, 2024, Helsinki, Finland, Endocrine Abstracts, 102: 64, <https://doi.org/10.1530/endoabs.102.64>.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	15
ВСТУП.....	17
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	25
1.1 Цукровий діабет 2-го типу: сучасний стан проблеми.....	25
1.2 Патофізіологія та патогенез ЦД 2-го типу.....	26
1.3 Фактори ризику та епідеміологія.....	27
1.4 Наявні методи лікування ЦД 2-го типу.....	28
1.5 Цукровий діабет 2-го типу підчас пандемії COVID-19.....	30
1.6 Постковідний синдром (ПКС) у пацієнтів з ЦД 2-го типу.....	33
1.7 Роль теломерів у розвитку більш важких симптомів при COVID-19.....	37
1.8 Роль мітохондріальної ДНК (мтДНК) та взаємозв'язок з COVID-19.....	40
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	46
2.1 Дизайн дослідження.....	46
2.2 Методологічна характеристика клінічних досліджень.....	48
2.3 Визначення довжини теломер та рівня мтДНК	50
2.4 Статична обробка отриманих результатів.....	51
РОЗДІЛ 3. ВИЯВЛЕННЯ ФАКТОРІВ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ	55
3.1 Загально-клінічні показники, анамнез COVID-19 та перебіг ЦД 2-го типу у обстежених пацієнтів	55
3.2 Вивчення впливу наявності ожиріння на перебіг ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу	62
3.3 Виявлення прогностичних факторів ризику розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу	66

РОЗДІЛ 4. РОЛЬ ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР У ПРОГНОЗУВАННІ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ	75
4.1 Загальна характеристика учасників дослідження	75
4.2 Анамнез учасників дослідження, пов'язаний з COVID-19.....	80
4.3 Аналіз відносної довжини теломер у пацієнтів на ЦД 2-го типу.....	81
4.4 Зв'язок між довжиною теломер і основними досліджуваними параметрами у пацієнтів на ЦД 2-го типу.....	84
4.5 Діагностична точність довжини теломер як предиктора розвитку ПКС у пацієнтів на ЦД 2-го типу.....	85
РОЗДІЛ 5. РОЛЬ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДНК ЛЕЙКОЦИТІВ У ПРОГНОЗУВАННІ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ	90
5.1 Загальна характеристика учасників дослідження	90
5.2 Анамнез учасників дослідження, пов'язаний з COVID-19.....	94
5.3 Аналіз рівня мтДНК у пацієнтів на ЦД 2-го типу.....	96
5.4 Виявлення потенційних біомаркерів ПКС	99
5.5 Прогностичне моделювання розвитку ПКС за допомогою машинного навчання	104
АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	109
ВИСНОВКИ.....	123
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	125
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	126

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВШ – відношення шансів

ГПП-1 - глюкагоноподібний пептид

ДІ – довірчий інтервал

ДПП-4 – дипептидил пептидаза 4

ЗХС – загальний холестерин

ІІ - інтерлейкін

ІМТ – індекс маси тіла

ІНФ - інтерферон

ІР – інсулінорезистентність

МАСХП – асоційована із метаболічною дисфункцією стеатотична хвороба печінки

МС – метаболічний синдром

мтДНК – мітохондріальна ДНК

НЗКТГ-2 - натрій залежний котранспортер глюкози 2-го типу

ОТ - об'єм талії

ПКС – постковідний синдром

ФНП- α - чинник некрозу пухлин α

ЦД – цукровий діабет

ADA – Американська діабетична асоціація

AUROC – площа під ROC-кривою

GAD-65 – автоантитіла до глютамаатдегідрогенази

HbA1c – глікований гемоглобін

ІА-2 – автоантитіла до тирозин фосфатази

ІАА – автоантитіла до інсуліну

ІСА – автоантитіла до цитоплазми β -клітин

LR – відношення правдоподібності

MLP – multilayer perceptron

NCEP – Національна освітня програма по холестерину

NF- κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NPV – негативне прогностичне значення

PNN - probabilistic neural network

PPV – позитивне прогностичне значення

ROC – receiver operating characteristic

VDBP – вітамін D-зв'язуючий білок

VDR – рецептор до гормонально активних форм вітаміну D

ВСТУП

Актуальність теми. Нещодавнє поширення важкого гострого респіраторного синдрому, викликаного коронавірусом 2 (SARS-CoV-2), і пов'язаної з ним коронавірусної хвороби (COVID-19), в якій запалення відіграє вирішальну роль, охопило все міжнародне співтовариство та викликало широке занепокоєння у сфері охорони здоров'я [1]. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) оголосила інфекцію SARS-CoV-2 глобальною пандемією [2]. У більшості випадків при інфікуванні вірусом симптоми мають легкий або помірний характер, але є люди, які входять до групи ризику, у яких хвороба протікає набагато важче. Це люди похилого віку й ті, у кого діагностуванні хронічні або супутні захворювання певного виду. Найвищий рівень летальності хворих на COVID-19 зареєстрований серед пацієнтів із наявними супутніми захворюваннями (10,5% для серцево-судинних захворювань, 7,3% для діабету, 6,3% для хронічних респіраторних захворювань, 6% для гіпертонії та 5,6% для раку) порівняно із загальним рівнем смертності 2,3% у всій когорті [3]. Незважаючи на високу захворюваність і поширеність інфекції SARS-Cov-2, основною причиною смерті в усьому світі залишаються захворювання, пов'язані з серцево-судинними порушеннями, а на 6 місці – цукровий діабет (ЦД). Слід зазначити, що ці два стани тісно пов'язані між собою і обидва мають тісний зв'язок із надмірною вагою та ожирінням [4].

На даний момент існує достатньо доказів можливого існування постковідного синдрому (ПКС) для визначення довготривалих наслідків інфекції SARS-CoV-2. Такі стани також відомі як тривалий COVID-19, довготривалий COVID-19, підгострий COVID-19, довгострокові наслідки COVID або хронічний COVID. ПКС внесений до Міжнародного класифікатора хвороб (МКХ-10) в рубриці U09.9 «Post COVID-19 condition».

ПКС — це сукупність наслідків COVID-19, що проявляється патологічними станами і має довгостроковий характер (до 12 тижнів і більше).

Він складається з безлічі симптомів, які стосуються всіх систем організму і не пояснюються жодним альтернативним діагнозом [5]. За даними ВООЗ до списку загальних входять наступні симптоми: втома, задишка та зниження розумових здібностей, таких як пам'ять. Багато пацієнтів страждають від тривоги, депресії, безсоння, також спостерігається втрата смаку та запаху, міалгії, головний біль тощо. Кардіологічні симптоми включають відчуття серцебиття, тахікардію та брадикардію, до респіраторних симптомів належить задишка як наслідок прямого пошкодження легень. Окрім цього, у пацієнтів може спостерігатися втрата апетиту через шлунково-кишкові симптоми. Деякі пацієнти, що перенесли гостре пошкодження нирок, вимушені проходити тривалий діаліз після COVID. Також чимало пацієнтів скаржаться на випадання волосся і появу висипу.

Сучасні стратегії лікування хронічних запальних захворювань базуються на ефективності знеболювальної та протизапальної дії. До них відноситься використання нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗЗ) і кортикостероїдів [6]. Однак тривале застосування НПЗЗ викликає кілька побічних ефектів, таких як нефротоксичність, серцево-судинні ураження та ураження шлунково-кишкового тракту [7]. НПЗЗ також змінюють видову різноманітність і стабільність мікрібіома, що ще більше погіршує стан пацієнтів [8].

Серед ПКС переважає втома, яка з'являється як у госпіталізованих, так і у не госпіталізованих пацієнтів [9, 10]. Зокрема, поширеність втоми після госпіталізації з приводу COVID-19 коливається від 52 до 72% через 1–6 місяців після виписки з лікарні [11]. Втома та супутні симптоми погіршують якість життя та перешкоджають нормальній працездатності. ЦД 2-го типу ускладнює перебіг COVID-19 і призводить до надмірної захворюваності та смертності [12]. Було показано, що пацієнти з ЦД 2-го типу, які хворіли на COVID-19, мали значно більшу втому після гострого захворювання та знижену силу рук, що вказувало на саркопенію [5]. Лікування втоми після COVID-19 має бути міждисциплінарним, включаючи лікаря, психолога-

консультанта, дієтолога та експерта з фізіотерапії. Необхідно оптимально контролювати рівень глюкози в крові та артеріальний тиск. Встановлено, що можливо можуть допомогти добавки з вітаміном D₃. Останнім часом одним із факторів ризику розвитку ЦД 2-го типу та метаболічного синдрому вважається гіповітаміноз D₃, який підвищує інсулінорезистентність (ІР) та знижує секрецію інсуліну[13, 14].

Біологічний вік людини, визначений довжиною теломер, може забезпечити кращий прогноз щодо наслідків COVID-19, ніж її хронологічний вік. Процес оцінки ризику виграє від інтеграції показників на основі теломер, які можуть ідентифікувати пацієнтів із високим ризиком, щоб лікування відповідало їхнім потребам.

Мітохондріальна ДНК (мтДНК) відіграє ключову роль у патофізіології COVID-19 та ПКС, контролює імунну відповідь разом із запаленням. Підвищений рівень вільно циркулюючої мтДНК і мітохондріальна дисфункція пов'язані з важким перебігом COVID-19, особливо у людей похилого віку. Терапевтичні стратегії, спрямовані на збереження цілісності мітохондрій і пом'якшення опосередкованого мтДНК запалення, мають потенціал для покращення результатів при COVID-19 і майбутніх пандеміях. Подальші дослідження мають важливе значення для розкриття ролі мітохондрій під час інфекційних захворювань.

На сьогодні, можливості лікування ПКС обмежені, оскільки поки немає достатнього розуміння механізмів захворювання. Пацієнтам може знадобитися багатопрофільна допомога, що включає довгостроковий моніторинг поточних симптомів, для виявлення потенційних ускладнень для клінічного втручання та необхідності у фізичній реабілітації, психічному здоров'ї та підтримці соціальних служб. Можливість ранньої специфічної діагностики та прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу дозволить покращити прогнози та якість життя пацієнтів з даними патологіями. Вищезазначене диктує необхідність глибокого та всебічного вивчення зазначеної проблеми.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Ретроспективний етап дисертаційної роботи виконувався за грантовою підтримкою Національного фонду досліджень України, проект №2022.01/0089 ««Оптимізація надання медичної допомоги пацієнтам з цукровим діабетом 2 типу у воєнний та повоєнний періоди»» (керівник проєкту проф. Кобиляк Н.М., грантоотримувач кафедра ендокринології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України). Вивчення діагностичної цінності довжини теломер та рівня мтДНК для розвитку ПКС здійснювалось в рамках наукової співпраці з Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України.

Мета дослідження – науково обґрунтувати та розробити стратегію своєчасної діагностики та прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання**:

1. Провести порівняльну оцінку стану компенсації та ефективність різних схем лікування пацієнтів з ЦД 2-го типу в залежності від наявності ПКС.
2. Проаналізувати особливості перебігу та виявити фактори ризику, які асоційовані з розвитком ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.
3. Оцінити взаємозв'язок між довжиною теломер лейкоцитів периферичної крові, та розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу з урахуванням клінічного фенотипу, статі, біологічного віку та метаболічного профілю.
4. Вивчення взаємозв'язку між мітохондріальною (мт)ДНК, виділеною з лейкоцитів периферичної крові та клініко-анамнестичними особливостями, маркерами запалення та метаболічним профілем у пацієнтів з ЦД 2-го типу в залежності від наявності ПКС.
5. Вивчення діагностичної цінності довжини теломер та рівня мтДНК для предикції розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Об'єкт дослідження: ЦД типу 2, COVID-19, ПКС.

Предмет дослідження: клінічні, біохімічні, імунологічні показники, довжина теломер, мтДНК у пацієнтів із ЦД 2-го типу, які перохворіли на COVID-19.

Методи дослідження: опитувальники, антропометричні (індекс маси тіла, об'єм талії), загально-клінічні, показники ліпідограми (загальний холестерин, аполіпопротеїни), показників вуглеводного обміну (HbA1c), маркери запалення (вч-СРБ, ІЛ-6), вітамін D (25-гідроксикальциферол), ПЛР в режимі реального часу для визначення довжини теломер та кількості мтДНК, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Використання регресійного аналізу та ймовірнісних нейромереж дозволило, вперше виділити незалежні предиктори асоційовані з розвитком ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу. Згідно аналізу виділено наступні фактори високого ризику: вперше діагностований ЦД 2-го типу, HbA1c вище 9,2%, наявність серцево-судинних або цереброваскулярних подій в анамнезі, важка форма COVID-19, яка потребує механічної вентиляції легень та використання аналогів інсуліну порівняно з людським інсуліном. Результати прогнозування з використанням нейронних мереж були значно кращими, ніж у логістичної моделі (AUROC 0,740 проти 0,808; $p < 0,001$), що вказує на наявність нелінійності в залежності між ризиком розвитку ПКС та факторами, які не можуть бути врахованими в простій регресійній моделі.

Вперше встановлено, що розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу характеризується з статистично значущим вкороченням довжини теломер ($1,1 \pm 0,2$ та $1,28 \pm 0,24$; $p = 0,003$) та нижчим вмістом мтДНК у лейкоцитах периферичної крові ($1,26 \pm 0,25$ проти $1,44 \pm 0,24$; $p = 0,011$) порівняно з тими в кого даний синдром не розвинувся. У субаналізі в пацієнтів групи ПКС спостерігалось значуще вкорочення теломер в людей старшого віку (більше 60 років) порівняно із хворими молодшими за 60 років ($p = 0,050$). У гендерно-обумовленому аналізі та з рахуванням клінічних фенотипів ПКС достовірної різниці по довжині теломер та у вмісті мтДНК не виявлено.

При використанні багатофакторного регресійного аналізу статистично значущі моделі вдалось побудувати лише для мтДНК. Вперше продемонстровано, що низький вміст мтДНК асоційований з розвитком ПКС, незалежно від кисневої (Нейджелкерк $R^2=0,334$), глюкокортикоїдної терапії (Нейджелкерк $R^2=0,331$) та тяжкості COVID-19 (Нейджелкерк $R^2=0,335$).

При застосуванні алгоритмів на основі машинного навчання встановлено, що укорочення довжини теломер, низький рівень мтДНК в лейкоцитах периферичної крові та вищий доковідний рівень HbA1c проявляють найсильніший вплив на розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Практичне значення одержаних результатів. Для прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу, які перенесли COVID-19 ключову роль відіграють наступні фактори: жіноча стать, тяжкість перебігу COVID-19, застосування штучної вентиляції легень, вперше діагностований діабет під час COVID-19, HbA1c вище 9,2%, лікування аналогами інсуліну, а також інфаркт міокарда або інсульт в анамнезі

Укорочення довжини теломер прискорює біологічне старіння і разом з підвищенням HbA1c збільшує ризик розвитку ПКС. З метою підвищення ефективності діагностики ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу в якості прогностичних біомаркерів можна використовувати вкорочення довжини теломер нижче 1,02 та/або вміст мтДНК з граничним значенням $\leq 1,62$.

Результати дослідження можуть використовуватись у загальній лікарській практиці ендокринологами, інфекціоністами, сімейними лікарями, терапевтами.

Впровадження результатів роботи у практику. Результати дослідження впроваджено у клінічну практику КНП «Київського міського клінічного ендокринологічного центру» та Інституту геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України і використовуються у лекційному курсі для студентів медичних факультетів, лікарів-інтернів, практичних лікарів та під час практичних занять на кафедрі ендокринології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України. Розроблені рекомендації

сприятимуть підвищенню рівня підготовки фахівців щодо прогнозування розвитку та раннього виявлення ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто обґрунтовані актуальність даного дослідження, здійснено аналіз наукової літератури, визначено його обсяг та напрямок, сформовано мету, завдання, матеріал і методи, необхідні для здійснення дослідження, а також виконано підбір тематичних хворих за допомогою клініко-лабораторних методів дослідження. Обґрунтування методів діагностики виконано автором самостійно. Автор брав участь у забиранні матеріалу, проведенні біохімічних досліджень, самостійно опрацював та інтерпретував результати, здійснював розрахунки показників, оцінював результати обстеження, вносив дані до індивідуальних карт хворих і комп'ютерної бази даних, проводив статистичну обробку отриманих даних.

Автором особисто здійснено аналіз та узагальнення результатів дослідження, написано всі розділи дисертації, сформульовано висновки, оформлено дисертацію. Концепція дисертації та практичні рекомендації здійснені за участю наукового керівника д.м.н., проф. Н.М. Кобиляка.

Визначення рівня мтДНК та оцінка довжини теломер відбувалось в Інституті геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України (директор Інституту геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України, член-кореспондент НАМН України., Маньковський Борис Микитович, завідувач лабораторії епігенетики к.біол.н., Д.С. Краснєнков).

Дисертант висловлює подяку за співпрацю лікарям КНП «Київського міського клінічного ендокринологічного центру», співробітникам лабораторії епігенетики (зав. лабораторією, к.б.н., Д.С. Краснєнков, співробітнику В. Корчєвій) Інституту геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України, а також за допомогу з обробкою даних з використанням інструментів машинного навчання особисто к.б.н. Д.С. Краснєнкову та к.т.н. О.В. Гурбичу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднено та обговорено на: 26-му Європейському конгресі з ендокринології (European Congress of Endocrinology) (Стокгольм, Швеція,

2024), постерна доповідь та 11-му конгресі молодих ендокринологів організованому Європейською асоціацією ендокринологів (11th ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES) Meeting) (Гельсінкі, Фінляндія, 2024), усна та постерна доповідь.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових робіт, що відображають основний зміст дисертаційної роботи: 3 тез у матеріалах міжнародних та всеукраїнських конгресів, конференцій, з'їздів, які опубліковано в міжнародному фаховому виданні, а також в 2 статтях, які опубліковано у виданнях, проіндексованих у Scopus та/або Web of Science Core Collection та віднесені до першого квартилю (Q1) відповідно до класифікації SC Imago Journal and Country Rank.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел (латиницею – 229). Роботу викладено на 150 сторінці, проілюстровано 23 рисунками та 22 таблицями.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Цукровий діабет 2-го типу: сучасний стан проблеми

Цукровий діабет 2 (ЦД 2-го) типу залишається головною дилемою для глобальної системи охорони здоров'я, впливаючи на мільйони життів і спричиняючи значне навантаження на медичну сферу. Незважаючи на те, що були досягнуті успіхи в розумінні механізмів, що лежать в основі ЦД 2-го типу, і прогрес у нових підходах до лікування, зростання поширеності захворювання продовжує набирати обертів через епідемію ожиріння, малорухливий спосіб життя та старіння населення [15–17]. Майже 95% діабетичного населення світу представлено цими двома когортами. У період з 2000 по 2019 рік стандартизований за віком рівень смертності від діабету зріс на 3% [18]. Інший аспект, який був задокументований у науковій літературі за останні п'ять років, стосується нових ліків, персоналізованих планів лікування та їх зв'язку з COVID-19.

Огляд літератури дисертаційного дослідження має містити інформацію про наукові публікації з обраної проблеми переважно за останні 5 років. Якщо вбити в пошукову систему медичної наукової літератури PubMed ключове слово «Цукровий діабет 2-го типу/Type 2 diabetes», то за останні 5 років було опубліковано 12 380 статей (станом на грудень 2024 року).

На **рисунку 1.1** показано, що кількість досліджень не зменшується, а зростає. Слід відмітити, що у порівнянні з 2019 роком (14803 публікації) кількість публікацій зросла на 11% у 2020 році (16445 публікації) та на 19,3% у 2021 році (17653 публікації). Вказаний факт, безумовно можна пояснити появою COVID-19 та взаємозв'язку ЦД 2-го з нею [1]. Дійсно, ЦД 2-го типу є одним із найпоширеніших супутніх захворювань у пацієнтів, інфікованих вірусом SARS-CoV-2, з відносно високою частотою тяжкого перебігу COVID-

19 [19, 20], ЦД 2-го типу посилює тяжкість COVID-19 і призводить до підвищеного ризику госпіталізації та смертності [21, 22].

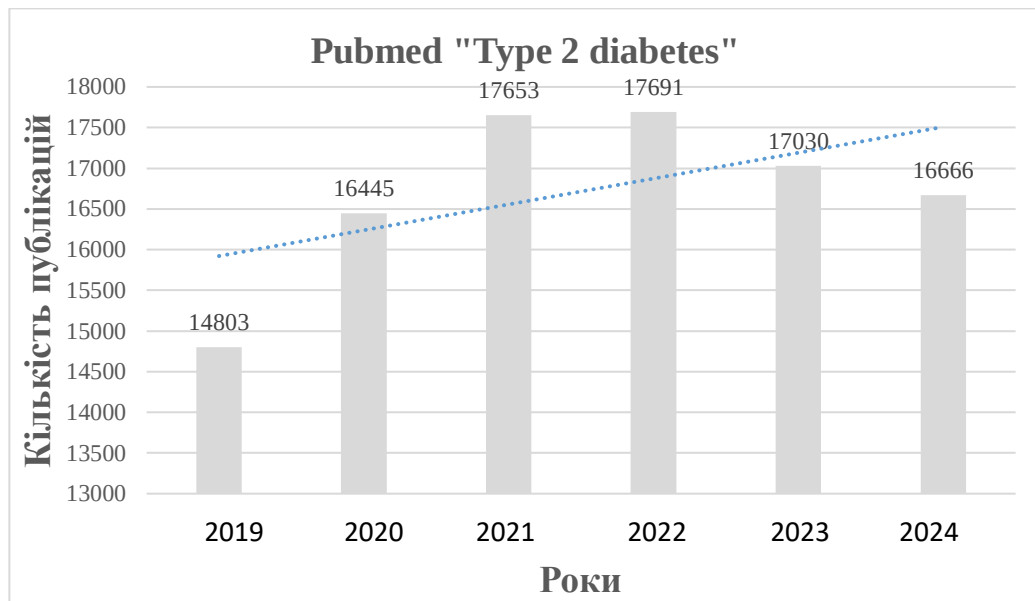


Рисунок 1.1 – Кількість публікацій про ЦД 2-го типу за 2019 – 2024 роки в пошуковій системі медичної наукової бібліотеки PubMed

За останні 5 років з'явилося багато досягнень у лікуванні ЦД 2-го типу, зокрема покращилося розуміння важливості раннього інтенсивного контролю глікемії, психічного здоров'я, соціальних детермінант здоров'я, моделей здорового харчування, постійного моніторингу рівня глюкози та переваг деяких препаратів для профілактики серцево-ниркових захворювань [15].

1.2. Патофізіологія та патогенез ЦД 2-го типу

Останні дослідження дещо розкрили складну патофізіологію ЦД 2-го типу, зосередившись на інсулінорезистентності (ІР), дисфункції бета-клітин і ролі запалення у патогенезі цього захворювання [17, 23]. Дослідження показують, що ІР у м'язах і печінці є основною ознакою ЦД 2-го типу, що призводить до порушення засвоєння глюкози та підвищеного утворення

глюкози в печінці. Крім того, дисфункція бета-клітин підшлункової залози знижує секрецію інсуліну, що посилює гіперглікемію [24, 25].

Безперервна гіперглікемія може спричинити ураження органів-мішеней шляхом підвищення ризику васкулярних захворювань, включаючи мікросудинні захворювання (такі як діабетична ретинопатія, нефропатія та нейропатія), а також атеросклеротичні макросудинні захворювання (серцево-судинні, цереброваскулярні та інші периферичні захворювання) [26–29].

На відміну від класичного ЦД 1-го типу, ЦД 2-го типу є складовою метаболічного синдрому і часто супроводжує інші компоненти даного синдрому, такі як надмірна вага/ожиріння, асоційовану із метаболічною дисфункцією стеатотичну хворобу печінки (МАСХП) та дисліпідемію. Зазвичай їх вважають захворюваннями, що передують ЦД 2-го типу. Серед них ожиріння, МАСХП і супутня гіпертензія, тісно пов'язані з поганим способом життя, є незалежними факторами ризику розвитку серцево-судинно-нирково-метаболічного синдрому та ЦД 2 типу, що вказує на те, що їм можна запобігти [30].

Дисліпідемія, гіперглікемія разом з іншими метаболічними розладами призводить до ІР та/або дисфункції β -клітин острівців підшлункової залози через спільні шляхи, такі як запалення, окислювальний стрес та відкладення жиру [31]. Особливо цікавим напрямком є роль хронічного системного низькоградієнтного запалення в прогресуванні ЦД 2-го типу. Запальні цитокіни, такі як фактор некрозу пухлин (ФНП)- α та інтерлейкін (ІЛ)-6, здатні порушувати сигнальні шляхи інсуліну, посилюючи ІР [32].

Генетичні фактори є важливими, причому останні геномні асоціативні дослідження ідентифікували численні локуси, пов'язані з ризиком ЦД 2-го типу, що свідчить про складну взаємодію між генетичною схильністю та впливом довкілля [33, 34].

1.3. Фактори ризику та епідеміологія

Як описано раніше, ЦД 2-го типу включає сукупність метаболічних розладів через ІР та знижену секрецію інсуліну β -клітинами ostrivciv pidshlunkovoi zalozy [35, 36]. Поширеність цього захворювання зростає, головним чином через ожиріння. Повідомляється, що понад 90% людей з ЦД 2-го типу мають надмірну вагу або ожиріння [37]. Малорухливий спосіб життя та нездорова харчова поведінка, особливо оброблена їжа та цукор, сприяють розвитку діабету. [38]. Ще одним визначальним фактором є вік, причому захворюваність значно зростає серед старших демографічних груп [39].

Дохід, рівень освіти та доступ до медичної допомоги формують соціально-економічні детермінанти, які змінюють градієнт нерівності захворюваності [40]. Наприклад, групи расових та етнічних меншин, зокрема афроамериканці та латиноамериканці, демонструють вищу поширеність ЦД 2-го типу разом із його ускладненнями [41].

1.4. Наявні методи лікування ЦД 2-го типу

Після встановлення діагнозу ЦД 2-го типу початкове лікування зазвичай включає зміну харчування та способу життя, а також збільшення фізичної активності в поєднанні з метформіном [30]. Метформін зменшує печінковий глікогеноліз, знижує резистентність периферичних тканин до інсуліну, підвищує постпрандіальну секрецію глюкагоноподібного пептиду – 1 (ГПП-1), і затримує травлення [42]. Фізичні вправи та втрата ваги також знижують ІР та ризик виникнення ЦД 2-го типу та ускладнень після встановлення діагнозу [43]. Якщо цей режим лікування неефективний для сприяння нормоглікемії, тоді наступними методами лікування, як правило, є сульфонілсечовина та меглітиніди, які діють як стимулятори секреції інсуліну [30]. Поширеними побічними ефектами стимуляторів секреції інсуліну є гіпоглікемія та збільшення маси тіла, і ці препарати зазвичай ефективні лише при короткочасній дії [42].

Останні досягнення у фармакологічному лікуванні ЦД 2-го типу зосереджуються на препаратах, які впливають як на контроль рівня глюкози, так і на інші метаболічні шляхи. У пацієнтів з ЦД 2-го типу агоністи рецепторів ГПП-1 (наприклад, семаглутид) отримали визнання завдяки здатності покращувати глікемічний контроль і сприяти зниженню ваги [44–46]. Інгібітори натрій-глюкозного котранспортера 2-го типу (іНЗКТГ-2) (наприклад, емпагліфлозин) показали ефективність у зниженні серцево-судинних ризиків у пацієнтів із ЦД 2-го типу, а комбінації препаратів агоністів ГПП-1 та іНЗКТГ-2 є перспективними варіантами лікування ЦД 2-го типу [47, 48]. Баріатрична хірургія у випадках тяжкого ожиріння також показує перспективи досягнення ремісії ЦД 2-го типу [49].

Інсулінотерапія, у вигляді багаторазових щоденних підшкірних ін'єкцій, ефективний метод для зниження глюкози в крові і зазвичай необхідний більшості пацієнтів, коли вищезазначені схеми лікування не дають результатів, але є кілька побічних ефектів, наприклад збільшення маси тіла, гіпоглікемія та підвищений ризик колоректального раку [50, 51]. Було підраховано, що 50% пацієнтів потребують інсулінотерапії протягом 10 років після встановлення діагнозу ЦД 2-го типу [52]. Нещодавно дослідження на гризунах і людях виявили, що пероральний інсулін може бути альтернативним варіантом лікування ЦД 2-го типу. Це пов'язано з появою нових систем доставки, які дозволяють пероральному інсуліну протистояти деградації в шлунково-кишковому тракті, транспортуватися в кровообіг, а потім діяти за бажанням залежно від концентрації глюкози в плазмі, що є бажаним, враховуючи ускладнення, пов'язані з кількома щоденними інвазивними ін'єкціями інсуліну [53–56].

Дослідження наголошують на потенціалі персоналізованої медицини в оптимізації лікування [57]. Наприклад, генетичне профілювання та використання біомаркерів можуть допомогти передбачити індивідуальні відповіді на певні препарати та налаштувати терапевтичні підходи [58, 59].

Таким чином, незважаючи на важливість медикаментозного лікування, зміни способу життя залишаються основою контролю ЦД 2-го типу. Інтенсивні зміни, такі як схуднення через дієту та фізичні вправи, суттєво покращують контроль рівня глюкози [60, 61]. Запобігання ЦД 2-го типу до його клінічного прояву є ключовою стратегією громадського здоров'я. Програми, як-от «Програма профілактики діабету», які зосереджуються на схудненні, підвищеній фізичній активності та змінах у харчуванні, успішно знижують ризик ЦД 2-го типу у групах високого ризику [62].

Глобальні ініціативи, такі як «Глобальний план дій ВООЗ для профілактики неінфекційних захворювань», наголошують на важливості усунення соціальних детермінант здоров'я, покращення доступу до медичної допомоги та створення здорових середовищ [63]. Дії спрямовані на зменшення споживання напоїв із високим вмістом цукру та підвищення доступності здорових продуктів харчування, демонструють позитивний ефект у деяких регіонах [64, 65].

1.5. Цукровий діабет 2-го типу підчас пандемії COVID-19

Недавнє поширення гострого респіраторного синдрому, викликаного коронавірусом 2 (SARS-CoV-2), і пов'язаної з ним коронавірусної хвороби (COVID-19), в якій запалення відіграє вирішальну роль, охопило все міжнародне співтовариство та викликало широке занепокоєння у сфері охорони здоров'я [1]. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) оголосила інфекцію SARS-CoV-2 глобальною пандемією [2].

У цьому контексті продемонстровано, що вищий рівень летальності зареєстрований серед пацієнтів із наявними супутніми захворюваннями (10,5% для серцево-судинних захворювань, 7,3% для діабету, 6,3% для хронічних респіраторних захворювань, 6% для гіпертонії та 5,6% для раку) порівняно із загальним рівнем смертності у 2,3% у всій когорті [3]. Отже,

сьогоднішнє дослідження хронічних захворювання, викликаних запаленням, набуває нової актуальності [66].

Незважаючи на високу захворюваність і поширеність інфекції SARS-CoV-2, основною причиною смерті в усьому світі залишаються захворювання, пов'язані з серцево-судинними порушеннями, а на 6 місці – ЦД. Слід зазначити, що ці два стани тісно пов'язані між собою і обидва мають тісний зв'язок із надмірною вагою та ожирінням [4].

Пандемія COVID-19 сильно вплинула на людей на планеті, особливо на тих, у кого був наявним ЦД 2-го типу. Як вже зазначалося, ЦД 2-го типу — це хронічний метаболічний розлад, що характеризується ІР та гіперглікемією, що може провокувати у пацієнтів тяжкі наслідки при інфікуванні SARS-CoV-2 вірусом, відповідальним за захворювання COVID-19.

Пацієнти з ЦД 2-го типу відносяться до групи високого ризику щодо важких наслідків COVID-19. Дослідження показують, що люди з діабетом частіше потребують госпіталізації, інтенсивної терапії та штучної вентиляції легень і мають вищі показники смертності порівняно з людьми без діабету [67, 68]. Поширеність ЦД 2-го типу серед госпіталізованих пацієнтів із COVID-19 коливається від 20% до 40%, що підкреслює необхідність цілеспрямованого клінічного лікування цієї популяції [67].

Основні фактори ризику включають поганий глікемічний контроль, похилий вік, ожиріння та наявність таких супутніх захворювань, як гіпертонія та серцево-судинні захворювання [69–72]. Докази свідчать про те, що гіперглікемія посилює запальну реакцію, що призводить до цитокінового шторму і гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС), які є характерними ознаками важких випадків COVID-19 [67].

Взаємодія між ЦД 2-го типу та COVID-19 включає численні патофізіологічні механізми. Хронічна гіперглікемія у хворих на ЦД порушує імунну функцію, включаючи знижену активність нейтрофілів і Т-клітинну відповідь, тим самим підвищуючи сприйнятливість до інфекцій [73]. SARS-CoV-2 ще більше посилює метаболічну дисфункцію шляхом зв'язування з

рецепторами ангіотензин-перетворюючого ферменту 2 (ACE2), які експресуються в β -клітинах підшлункової залози, потенційно погіршуючи секрецію інсуліну та контроль глікемії [74].

Крім того, прозапальний стан при ЦД 2-го типу, що характеризується підвищеним рівнем ІЛ-6 і ФНП- α , поєднується із запальним каскадом, спровокованим COVID-19. Цей подвійний удар сприяє ендотеліальній дисфункції, коагулопатії та поліорганному пошкодженню [75].

Ефективне лікування ЦД 2-го типу в контексті COVID-19 передбачає багатогранний підхід. Контроль глікемії залишається найважливішим фактором, оскільки дослідження показали, що добре контрольований рівень глюкози в крові ($\leq 7,8$ ммоль/л) пов'язаний зі зниженням смертності при COVID-19 [76]. Щоб уникнути коливань рівня цукру в крові, госпіталізованим пацієнтам рекомендується постійний моніторинг рівня глюкози та інсулінотерапія [73, 76].

Метформін, препарат першої лінії у терапії ЦД 2-го типу, продемонстрував потенційну протизапальну дію та зниження смертності, пов'язаної з COVID-19, у проспективних дослідженнях [77]. Однак рекомендується дотримуватися обережності через ризик розвитку лактатацидозу у важкохворих пацієнтів. Подібним чином іНЗКТГ-2 можуть сприяти серцево-судинній системі, але становлять ризик кетоацидозу під час гострого захворювання [67].

Показано, що використання кортикостероїдів, таких як дексаметазон, у людей з COVID-19 покращує результати у важких випадках. Однак ці препарати можуть посилити гіперглікемію, що вимагає ретельного контролю рівня глюкози під час лікування [78].

Таким чином, пандемія COVID-19 підкреслила важливість вирішення проблем хронічних захворювань, таких як ЦД 2-го типу, у стратегіях охорони здоров'я. Розуміння двонаправленого зв'язку між цими станами має важливе значення для розробки ефективного лікування та профілактики. Підгострі наслідки COVID-19, широко відомі як тривалий COVID, можуть включати

погіршення контролю глікемії та початок діабету у раніше здорових людей. Тривалі проспективні дослідження необхідні для оцінки цих результатів і розробки цільових заходів [68].

1.6. Постковідний синдром (ПКС) у пацієнтів з ЦД 2-го типу

На сьогоднішній день існує значна кількість доказів, що підтверджують наявність ПКС, який викликаний тривалими наслідками вірусу SARS-CoV-2. Цей стан також відомий як довготривалий COVID, тривалий COVID, пост-гострий COVID-19, довгострокові наслідки COVID або хронічний COVID. Згідно з міжнародним класифікатором хвороб (МКХ-10), у рубриці U09.9 ця патологія позначається як «Post COVID-19 condition/Постковідний синдром».

ПКС охоплює ряд тривалих наслідків, які можуть тривати понад 12 тижнів після первинного зараження COVID-19. Він включає в себе різноманітні симптоми, що впливають на всі системи організму і не можуть бути пояснені жодним іншим діагнозом [5]. ВООЗ повідомляє, що загальні симптоми COVID-19 включають виснаження в поєднанні з задишкою разом із зниженням когнітивних здібностей, що впливає на функцію пам'яті. Пацієнти відчують численні симптоми, наприклад тривогу, депресію та безсоння. Також у хворих можуть виявити втрату смаку та нюху, біль у м'язах, головний біль та інше ускладнення [5].

Серцево-судинні прояви COVID-19 можуть включати серцебиття, тахікардію або навпаки брадикардію. Пряме ураження легень призводить до респіраторних симптомів із задишкою як загальним проявом. У деяких пацієнтів внаслідок шлунково-кишкової симптоматики розвивається втрата апетиту [5].

Пацієнтам, які перенесли гостре ураження нирок, може знадобитися тривалий діаліз навіть після одужання від COVID-19. Багато пацієнтів відзначають випадіння волосся та висипання на шкірі під час хвороби. Сучасні стратегії лікування хронічних запальних захворювань зосереджені на

забезпеченні ефективної аналгезії та протизапальної терапії. Медична практика включає призначення як нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗЗ), так і стероїдних препаратів [6]. Однак тривале застосування НПЗЗ викликає кілька побічних ефектів, таких як нефротоксичність, серцево-судинні ураження та ураження шлунково-кишкового тракту [7]. НПЗЗ також змінюють видову різноманітність і стабільність мікробіому, що ще більше погіршує стан пацієнтів [8].

Серед симптомів ПКС переважає втома, яка з'являється як у госпіталізованих, так і у не госпіталізованих пацієнтів [9, 10]. Зокрема, поширеність втоми після госпіталізації з приводу COVID-19 коливається від 52 до 72% через 1–6 місяців після виписки з лікарні [11]. Втома та супутні симптоми погіршують якість життя та перешкоджають нормальній працездатності. ЦД 2-го типу ускладнює перебіг COVID-19 і призводить до надмірної захворюваності та смертності [12]. Пацієнти з ЦД 2-го типу, які хворіли на COVID-19, мали значно більшу втому після гострого захворювання та знижену силу рук, що вказувало на саркопенію [5].

Пацієнти з ЦД 2-го типу мають не тільки підвищений ризик важкої форми COVID-19, але й більш сприйнятливі до довгострокових ускладнень, широко відомих як ПКС. Встановлено, що від 30% до 50% тих, хто перехворів на COVID-19, відчують тривалі симптоми, з більшою поширеністю серед тих, хто страждає на ЦД 2-го типу [68]. Ці симптоми включають втому, задишку, серцево-судинні проблеми та погіршення глікемічного контролю.

До ключових факторів ризику, що сприяють тривалому перебігу COVID-19 в осіб із ЦД 2-го типу, належать стійка гіперглікемія, хронічне системне запалення та наявні мікро- і макросудинні ускладнення. Ожиріння та літній вік ще більше посилюють ризик, що свідчить про важливість комплексного лікування під час гострої інфекції та одужання [79].

Взаємодія між ЦД 2-го типу та ПКС передбачає накладення механізмів запалення, імунної дисфункції та метаболічних порушень. Хронічна гіперглікемія при діабеті схиляє пацієнтів до прозапального стану, що

характеризується підвищеними рівнями цитокінів, а саме, ІЛ-6 та ФНП- α . Ці запальні шляхи ще більше посилюються під час і після COVID-19, сприяючи тривалій дисфункції органів і поганому одужанню [75].

Взаємодія SARS-CoV-2 з рецептором ACE-2 причетна до довгострокових ускладнень. У хворих на ЦД вплив вірусу на експресію ACE2 посилює ендотеліальну дисфункцію та серцево-судинну напругу. Крім того, було показано, що SARS-CoV-2 інфікує β -клітини підшлункової залози, що потенційно може призвести до погіршення вже існуючого діабету або нового початку діабету у деяких пацієнтів [74].

Поширені прояви ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу включають:

1. Метаболічні порушення проявлялися у підвищенні ІР та стійкій гіперглікемії, що потребувало коригування лікування ЦД [76].
2. Серцево-судинні ускладнення: згідно з дослідженнями, ця група пацієнтів стикається з вищими показниками запалення серця, а також симптомів аритмії та утворення тромбів [68, 72].
3. Неврологічні симптоми: захворювання, пов'язані з ЦД, викликають гірші когнітивні порушення, які лікарі часто називають «мозковим туманом», а також пошкодження периферичних нервів [80].
4. Втома та біль: постійний стан втоми разом із зниженням фізичних можливостей суттєво впливає на якість життя хворих і ускладнює лікування ЦД [79].

Лікування втоми після COVID-19 у пацієнтів з ЦД 2-го типу має залучати мультидисциплінарну команду у складі психолога-консультанта, дієтолога та фізіотерапевта. Пацієнтам необхідно підтримувати оптимальний рівень глюкози в крові разом із контролем артеріального тиску. Основні стратегії включають:

1. Оптимізація контролю рівня глюкози крові на основі діапазону, який зменшує запалення та сприяє процесам загоєння. Рекомендується постійний моніторинг рівня глюкози та персоналізовані режими інсуліну [81].

2. Моніторинг вперше виниклого діабету. Пацієнти, які одужують від COVID-19, повинні пройти скринінг на ознаки початку діабету, особливо якщо у них була гостра гіперглікемія під час інфекції [74].

3. Фізична реабілітація: структуровані програми фізичних вправ під час фізичної реабілітації допомагають зменшити втому, а також покращують рухові здібності, але потрібно враховувати індивідуальні здібності пацієнтів та наявність супутніх захворювань [82].

4. Фармакологічні втручання. Метформін та іНЗКТГ-2 досліджуються на їхню роль у зменшенні довгострокових ускладнень [77].

5. Психологічна підтримка. Вирішення проблем психічного здоров'я, а саме депресії та тривоги, має вирішальне значення, оскільки вони переважають у хворих на ЦД, які довго хворіють на COVID-19 [83].

Останнім часом одним із факторів ризику розвитку ЦД 2-го типу та метаболічного синдрому вважається дефіцит вітаміну D₃, який підвищує ІР та знижує секрецію інсуліну [13, 14].

Дійсно, натуральні ліки часто є привабливим вибором для пацієнтів з діагнозом гострих і хронічних запальних станів. На сьогодні в науковій літературі активно вивчаються механізми протизапальної та гепатопротекторної дії вітаміну D₃ (холекальциферолу) та в цілому наукове обґрунтування його ефективного застосування в клініці ЦД 2-го типу [14, 84]. Зі збільшенням діагностики ЦД 2-го типу серед людей похилого віку важливість вивчення ролі вітаміну D₃ у цьому метаболічному розладі стала більш помітною [85]. Крім того, було виявлено дефіцит вітаміну D₃ у пацієнтів, які найбільш вразливі до COVID-19 [86].

Останнім часом дефіцит D, який може підвищувати ІР і знижувати секрецію інсуліну у людей і тварин, розглядається як один із найважливіших факторів у вивченні ЦД 2-го типу [14, 87] **(рис. 1.2)**.

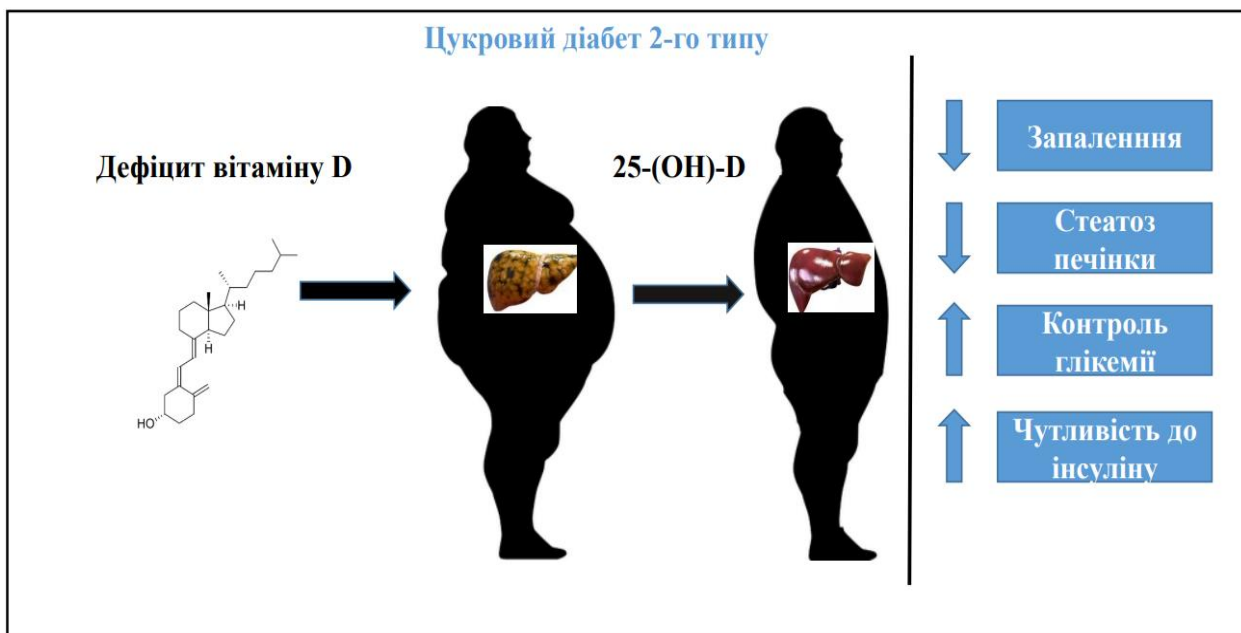


Рисунок 1.2 – Шляхи ефективності вітаміну D₃ у лікуванні ЦД 2-го типу [14]

Гіпокальціємія, яка виникає внаслідок дефіциту вітаміну D₃, може призвести до зниження індукованої глюкозою секреції інсуліну в β -клітинах підшлункової залози. Сьогодні дефіцит D – це пандемія, яка вражає більшість населення. Клінічні дослідження підтверджують, що вітамін D₃ є модулятором імунної відповіді при різних запальних та аутоімунних захворюваннях [88, 89].

1.7. Роль теломерів у розвитку більш важких симптомів при COVID-19

Ідентифікація важливих молекулярних біомаркерів для моніторингу ПКС як на його початку, так і при прогресуванні залишається актуальною, незважаючи на численні симптоми, які зараз спостерігаються. Дослідження показали, що коротша довжина теломер підвищує небезпеку розвитку важких симптомів COVID-19 [90].

Захисні «ластоподібні клітини», які називаються теломерами на кінцях хромосом, відіграють важливу роль у підтримці геномної стабільності та здоров'я клітин. Процес клітинного поділу спричиняє вкорочення теломер,

оскільки вони містять повторювані послідовності нуклеотидів і служать маркерами старіння клітини. Дослідження кількох дослідників, що вивчали зв'язок теломер із COVID-19, підкреслили, як це впливає на сприйнятливість до захворювань разом із тяжкістю захворювання та результатами одужання [91, 92].

Для правильного функціонування імунної системи потрібні теломери, особливо при описі механізмів адаптивної імунної відповіді. Т-клітинам і V-клітинам потрібна належна довжина теломер, щоб підтримувати свою здатність до поділу. Вкорочення теломерів призводить до імуностаріння та порушення імунної функції, що розвивається з віком, одночасно збільшуючи сприйнятливість до SARS-CoV-2 та інших інфекцій [93].

Вчені зосередили свої останні дослідження на зв'язку між довжиною теломер і наслідками COVID-19. Пацієнти з критично короткою довжиною теломер демонструють знижену противірусну відповідь разом із сильнішим запаленням, що вказує на важкий перебіг COVID-19 [94]. Довжина теломерів безпосередньо пов'язана з наявними хронічними захворюваннями, такими як серцеві захворювання та діабет, які відомі як важливі фактори ризику COVID-19. Пацієнти, які мають ПКС, показали помітне зменшення довжини хромосомних теломер, що відрізнялося від результатів тестування контрольної групи. Найбільш значні відмінності спостерігалися серед населення віком до шістдесяти років [95].

Дослідження підтвердили, що тяжкість COVID-19 демонструє прямий зв'язок із довжиною теломер. Відповідно до когортного дослідження Froidure та ін., у пацієнтів з коротшими теломерами спостерігалися значні респіраторні ускладнення, включаючи ГРДС [90]. Ці результати демонструють, що стирання теломер посилює гіперзапальний стан, який спостерігається у важких випадках COVID-19.

Крім того, дисфункція теломерів може призвести до пошкодження ендотеліальних клітин і аномалій коагуляції, що є серйозними проявами COVID-19. Клітини з критично короткими теломерами, які активують свої

сигнальні шляхи відповіді на пошкодження ДНК, створюють додаткові пошкодження тканин і порушують імунну регуляцію [96, 97].

Взаємозв'язок між старінням і теломерами надає важливі докази того, чому COVID-19 непропорційно впливає на людей похилого віку. Прогресуюче зменшення довжини теломерів під час старіння порушує механізми відновлення клітин, одночасно збільшуючи вразливість до інфекцій. Люди старше 65 років із укороченими теломерами мають гірші результати зараження SARS-CoV-2, що включає вищі показники госпіталізації та смертності [98]. Довжина теломер забезпечує кращий прогноз щодо наслідків COVID-19, оскільки служить кращим показником біологічного віку, ніж хронологічний вік. Дослідницькі показники, що використовують вимірювання теломерів, допоможуть клініцистам ідентифікувати осіб із підвищеним ризиком, щоб вони могли застосовувати відповідні заходи [99].

Розуміння того, як функціонують теломери при COVID-19, дозволяє постачальникам медичних послуг планувати потенційні стратегії лікування. Результати лікування пацієнтів можна покращити за допомогою стратегій, які або зберігають довжину теломер, або покращують пов'язану з теломерами дисфункцію, наприклад:

1. Активація клітинної теломерази призводить до збереження довжини теломер, одночасно збільшуючи клітинний опір. Наукові групи вивчають експериментальні сполуки, які активують функції теломерази, щоб визначити їх потенційне використання в модифікації вікових захворювань для можливої адаптації до лікування COVID-19 [100, 101].

2. Протизапальна терапія. Націлювання на шляхи передачі сигналів NF- κ B та IL-6 разом із дисфункцією теломер потенційно зменшує тяжкість запалення, пов'язаного з COVID-19 [102, 103].

3. Антиоксидантні підходи: прискорене вкорочення теломер відбувається через окислювальний стрес. Імунологічна відповідь проти вірусних інфекцій покращується завдяки антиоксидантній терапії,

спрямованій на зменшення мітохондріальної дисфункції, яка захищає теломери [104].

Останні дані показують, наскільки теломери мають важливе значення для COVID-19, але деякі обмеження досліджень потребують уваги. Більшість досліджень спостерігали за учасниками, які надавали ретроспективні дані без встановлення чітких причинно-наслідкових зв'язків. Гетерогенність методів тестування довжини теломерів і досліджуваних популяцій створює проблеми для прямого порівняння між дослідженнями [94].

Майбутні дослідження повинні носити проспективний характер для відстеження динаміки теломер у продовж періоду інфікування COVID-19. Дослідження, що вивчають комунікацію між теломерами та наслідками SARS-CoV-2 після інфікування, допоможуть визначити довгострокові наслідки для здоров'я пацієнтів.

1.8. Роль мітохондріальної ДНК (мтДНК) та взаємозв'язок з COVID-19

Мітохондріальна ДНК (мтДНК), унікальний генетичний матеріал, знайдений у мітохондріях, відіграє вирішальну роль у виробництві клітинної енергії та передачі сигналів. Його участь в імунній відповіді та запаленні привернула увагу в контексті інфекційних захворювань, включаючи COVID-19. Взаємодія між мітохондріальною дисфункцією, вивільненням мтДНК і патофізіологією COVID-19 висвітлює важливу область дослідження.

Маючи патогенні властивості, мтДНК функціонує як небезпечний молекулярний патерн асоційований із пошкодженням (damage-associated molecular pattern, DAMP), коли вона потрапляє в цитозольний простір і позаклітинну область. Вивільнення вільних міточастинок відбувається або через збій у роботі мітохондрій, або через окислювальний стрес, або через пошкодження клітин. Пацієнти з COVID-19 із підвищеною концентрацією

мтДНК демонстрували погіршення запалення разом із поганими результатами захворювання [105].

Активація з допомогою мтДНК рецепторів розпізнавання патернів (pattern recognition receptors, PRR), таких як Toll-подібний рецептор 9 (TLR9), призводить до ампліфікації запальних цитокінів, включаючи ІЛ-6 і ФНП- α . Вказані цитокіни сприяють цитокіновому шторму, який спостерігається у важких випадках COVID-19, ще більше посилюючи пошкодження тканин і дисфункцію органів [106].

Результати дослідження пандемії встановили, що вищий рівень циркулюючої вільної мтДНК асоційований із важкими наслідками COVID-19 і негативними результатами лікування. Рівень вільно циркулюючої мітохондріальної ДНК був у вісім разів вищий у пацієнтів інтенсивної терапії, які страждали від COVID-19, порівняно зі здоровими [107]. Дослідження довели, що інфекція SARS-CoV-2 порушує динаміку мітохондрій, що призводить до посилення окислювального стресу та порушення енергетичного обміну. Встановлено, що пацієнти з важким перебігом COVID-19 демонстрували значно знижене мітохондріальне дихання та підвищений рівень активних форм кисню (АФК), що корелювало з тяжкістю захворювання [108].

Дослідники запропонували вимірювати мтДНК у крові як маркер для оцінки тяжкості захворювання COVID-19. Більш високі рівні мтДНК вказують на значні пошкодження клітин, що підвищує ризик смертності пацієнтів, інфікованих COVID-19 [109]. Ці результати підкреслюють важливість здоров'я мітохондрій у модулюванні імунної відповіді та пом'якшенні прогресування захворювання. Отже, мітохондріальна дисфункція є ознакою тяжкого перебігу COVID-19.

Останні наукові дослідження показують, що у пацієнтів з діагнозом COVID-19 спостерігається аномально підвищений рівень циркулюючої вільної мтДНК. Пацієнти старшого віку та пацієнти з особливими захворюваннями, а також пацієнти жіночої статі мали гірші наслідки COVID-

19, що призводило до госпіталізації в палати інтенсивної терапії або смерті [110, 111].

Показник рівня циркулюючої вільної мтДНК виявив багатообіцяючий потенціал як предиктор внутрішньо лікарняної смертності серед пацієнтів із COVID-19, досягнувши AUROC 0,90 (95% ДІ: 0,75–0,90) [111]. В іншому дослідженні спостерігали, що рівні циркулюючої вільної мтДНК були значно нижчими у пацієнтів із симптомами COVID-19 порівняно у пацієнтів без симптомів, підкреслюючи значну різницю, яка вимагає подальшого вивчення [112].

Сучасні наукові дані щодо ролі мтДНК у розвитку ПКС обмежені. Деякі дослідження повідомляють про значне окислювальне пошкодження мтДНК у пацієнтів, які відчувають втому [112]. Крім того, є докази зниження рівня білків, які беруть участь у відновленні ДНК та підтримці якості мітохондрій під час оксидативного стресу, особливо в осіб, які відчувають мозкове затуманення (brain fog) [113].

Нещодавнє дослідження [114] виявило нижчі концентрації мт-ДНК в мононуклеарних клітинах периферичної крові у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19, ніж у пацієнтів з легким ($p=0,005$) або помірним ($p=0,011$) COVID-19 [114]. Крім того, рівні мтДНК були значно нижчими у пацієнтів з летальними наслідками, ніж у тих, хто вижив [114]. Таким чином, зниження мтДНК в лейкоцитах пов'язане з поганим прогнозом у хворих на COVID-19 і розвитком віддалених наслідків [115, 116] та сприяє активації імунної системи, що посилює запальну реакцію [117].

МтДНК більш сприйнятлива до пошкодження АФК порівняно з ядерною ДНК [118]. Ця вразливість виникає через неефективні механізми відновлення, пов'язані з мтДНК, і відсутність захисту від гістонів [117]. Коли мтДНК пошкоджена, її рівні змінюються та знижуються, що призводить до посилення мітохондріальної дисфункції. Ця дисфункція може загострювати захворювання через петлю позитивного зворотного зв'язку [114, 119].

Старіння пов'язане з дисфункцією мітохондрій і підвищеною сприйнятливістю до інфекцій. Люди похилого віку з уже існуючими мітохондріальними порушеннями більш уразливі до важких наслідків COVID-19. Пов'язане з віком зниження механізмів контролю якості мітохондрій, таких як мітофагія, посилює накопичення пошкоджених мітохондрій і сприяє хронічному запаленню [120].

Крім того, такі супутні захворювання, як серцево-судинні, ЦД і ожиріння, які переважають серед людей похилого віку, ще більше погіршують функцію мітохондрій. Ці супутні захворювання є значними факторами ризику важкої форми COVID-19 і характеризуються підвищеним окисним стресом і системним запаленням, частково опосередкованим дисфункцією мітохондрій [121].

Націлювання на мітохондріальну дисфункцію та запалення, опосередковане мтДНК, пропонує багатообіцяючі терапевтичні шляхи лікування COVID-19. Потенційні стратегії включають:

1. Антиоксиданти, націлені на мітохондрії: такі молекули, як MitoQ і SS-31, показали ефективність у зниженні окисного стресу та збереженні функції мітохондрій. Ці сполуки можуть пом'якшити запальний каскад, викликаний вивільненням мтДНК [122].

2. Гальмування вивільнення мтДНК: фармакологічні засоби, які стабілізують мітохондріальні мембрани або посилюють мітофагію, можуть запобігти вивільненню мтДНК у цитозоль, тим самим зменшуючи запалення. Наприклад, циклоспорин А був запропонований як потенційний кандидат для пом'якшення запалення, викликаного мтДНК [123].

3. Антагоністи TLR9: блокування активації TLR9 циркулюючою мтДНК може послабити цитокіновий шторм і покращити результати при важкій формі COVID-19. Тривають клінічні випробування для оцінки ефективності інгібіторів TLR9 при запальних захворюваннях [106].

Незважаючи на значний прогрес у розумінні ролі мтДНК у патогенезі COVID-19 та ПКС, залишається незрозумілими деякі моменти. Результатам не

вистачає узагальнення через популяційну гетерогенність у поєднанні з різними методами вимірювання ДНК і відсутністю довгострокових досліджень. Також, взаємодія між вірусними механізмами та мітохондріальною динамікою вимагає подальшого вивчення.

Резюме. Проведений огляд наукових джерел за останні 5 років дозволяє зробити заключення, що діагностика та лікування ЦД 2-го типу потребує комплексних протоколів лікування, особливо за часів пандемії COVID-19. Останні діагностичні та фармакологічні досягнення дають підстави сподіватися на зменшення кількості та важкості перебігу цього захворювання. Взаємозв'язок між ЦД 2-го типу та ПКС створює значні проблеми для одужання пацієнтів. Для зменшення віддалених наслідків COVID-19 для пацієнтів з ЦД 2-го типу надзвичайно важливою є співпраця між сімейними лікарями, ендокринологами, інфекціоністами та іншими медичними працівниками. Крім того, необхідні додаткові дослідження, щоб зрозуміти довготривале прогресування ПКС у людей із ЦД 2-го типу і визначити біомаркери для раннього виявлення та цілеспрямованого лікування.

На жаль, методи лікування ПКС дуже обмежені, оскільки механізми захворювання ще не повністю вивчені. Найчастіше хворим потрібен мультидисциплінарний догляд, а саме тривале спостереження симптомів для виявлення можливих ускладнень для клінічного втручання, а також потреби у фізичній реабілітації, психічному здоров'ї та підтримці соціальних служб. Можливість ранньої специфічної діагностики та прогнозування розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу дозволить покращити прогноз та якість життя хворих із зазначеними патологіями.

Біологічний вік людини, визначений довжиною теломер, може забезпечити кращий прогноз щодо наслідків COVID-19, ніж її хронологічний вік. Процес оцінки ризику виграє від інтеграції показників на основі теломер, які можуть ідентифікувати пацієнтів із високим ризиком, щоб лікування відповідало їхнім потребам.

Мітохондріальна ДНК (мтДНК) відіграє ключову роль у патофізіології COVID-19 та ПКС, контролює імунну відповідь разом із запаленням. Підвищений рівень вільно циркулюючої мтДНК і мітохондріальна дисфункція пов'язані з важким перебігом COVID-19, особливо у людей похилого віку. Терапевтичні стратегії, спрямовані на збереження цілісності мітохондрій і пом'якшення опосередкованого мтДНК запалення, мають потенціал для покращення результатів при COVID-19 і майбутніх пандеміях. Подальші дослідження мають важливе значення для розкриття ролі мітохондрій під час інфекційних захворювань.

У зв'язку з зазначеним виникає необхідність поглибленого комплексного аналізу особливостей перебігу та визначення предикторів важкості ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу, що і обумовило мету та завдання проведеного дисертаційного дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Дизайн дослідження

Дисертаційна робота проведена в 2 етапи в КНП «Київський міський клінічний ендокринологічний центр (КМКЕЦ)», який є клінічною базою кафедри ендокринології НМУ імені О.О. Богомольця. Протокол дослідження був затверджений Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (номер протоколу: 171/2023) відповідно до принципів Гельсінської декларації 1975 року. Мета та методологія дослідження були повністю роз'яснені учасникам дослідження, а всіх пацієнтів попросили надати підписану інформовану згоду до початку збору даних.

На ретроспективному етапі (етап 1) шляхом опитування зібрано дані 469 пацієнтів. В залежності від наявності ПКС групи були розподілені наступним чином: групу ПКС (основна група, $n=227$) та пацієнтів, у яких не розвинувся ПКС (група порівняння, $n=242$).

На 2 етапі, для дослідження прогностичної оцінки довжини теломер та мтДНК було проведено одномоментне дослідження по типу «випадок-контроль». Критерія включення відповідало 69 пацієнтів.

На 1 етапі пацієнтам було запропоновано заповнити спеціально розроблені анкети з метою ретроспективної оцінки основних параметрів. Анкети включають такі відомості: паспортні дані, антропометричні показники, рік встановлення ЦД 2-го типу, цукрознижувальна терапія, наявні ускладнення ЦД, інфаркт міокарда, гострі порушення мозкового кровообігу, анамнез стосовно COVID-19, тяжкість та алгоритм лікування COVID-19, симптоми ПКС, тривалість ПКС, попередні рівні HbA_{1c}, ліпідів та основних біохімічних показників. Анкету пацієнти заповнювали разом із фаховими спеціалістами. Дані були зібрані та зареєстровані під час контрольних візитів

пацієнтів до амбулаторій. Медичні дані також були взяті з медичних карток учасників.

За класифікацією BOOЗ, COVID-19 класифікували як легкий, помірний або важкий. Легкий перебіг COVID-19 було визначено як респіраторні симптоми без ознак пневмонії або гіпоксії, тоді як помірна або тяжка інфекція вимагала наявності клінічних та рентгенологічних ознак пневмонії. У помірних випадках SpO_2 становив $\geq 90\%$ при перебуванні в приміщенні, водночас важкий перебіг COVID-19 діагностували, коли частота дихання досягала понад 30 вдихів/хв або SpO_2 становила $< 90\%$ при перебуванні в приміщенні [124, 125].

Критеріями відбору були: вік старше 18 років, наявність ЦД 2-го типу та COVID-19, підтверджена позитивним тестом РЧ-ПЛР (RT-PCR). Критеріями, які не дозволяли залучати пацієнтів до дослідження були: цукровий діабет 1 типу або вторинний діабет та активне злоякісне новоутворення. Зібрано дані 469 пацієнтів, які перенесли інфекцію COVID-19 у різних регіонах України. Згідно з відповідями, пацієнти були розділені на 2 групи залежно від результатів протягом 6 місяців після інфікування COVID-19: групу ПКС (основна група, $n=227$) та пацієнтів, у яких не розвинувся ПКС (група порівняння, $n=242$). ПКС був визначений за критеріями BOOЗ як тривалість симптомів або розвиток нових симптомів більше ніж через 3 місяці після первинної інфекції SARS-CoV-2.

Діагноз ЦД встановлювали згідно з критеріями BOOЗ (1999р.) [126]:

1. Рівень глюкози плазми натще $\geq 7,0$ ммоль/л або цільної капілярної крові $\geq 6,1$ ммоль/л (не менше 8 годин до проведення аналізу).
2. Рівень глюкози плазми $\geq 11,1$ ммоль/л при випадковому дослідженні за наявності класичних симптомів діабету (поліурія, полідипсія, невмотивована втрата маси тіла).

3. Рівень глюкози плазми $\geq 11,1$ ммоль/л через 2 години після проведення перорального глюкозотолерантного тесту з використанням 75 г глюкози у людей зі схильністю до діабету.

4. Рівень HbA1c понад 6,5 % є діагностичним критерієм ЦД (ВООЗ, 2011). Нормальним вважається рівень HbA1c до 6 %. Показники HbA1c в межах 6,0-6,5 % свідчать про наявність предіабету.

В подальшому 68 пацієнтів були включені у одномоментне дослідження по типу «випадок-контроль», для дослідження прогностичної оцінки довжини теломер та мтДНК в розвитку ПКС. Дана когорта пацієнтів із ЦД 2-го типу проходила стандартне клініко-діагностичне обстеження, передбачене чинними протоколами. Лабораторне обстеження проводилось централізовано в сертифікованій лабораторії на обладнанні експертного рівня.

На даному етапі додатково був проведений субаналіз, згідно якого пацієнти основної групи були розподілені на 4 підгрупи в залежності від клінічного фенотипу ПКС. В дослідження включатимуться пацієнти з наступними фенотипами: з переважанням втоми та/або болю, нейро-сенсорними розладами, кардіо-респіраторними та метаболічно-асоційованими симптомами (які визначають як новий початок ЦД 2-го типу, або флуктуаційний, наростаючий, стійкий, з рецидивом уже існуючих хронічних ускладнень перебіг ЦД 2-го типу).

2.2 Методологічна характеристика клінічних досліджень

Після підписання інформованої згоди у пацієнтів натщесерце були зібрані зразки сироватки крові і негайно заморожені при $t -20^{\circ}\text{C}$. Для кожного пацієнта отримано відповідні клінічні і демографічні дані. Антропометричні параметри включали вимірювання ваги та зросту з точністю до 100 г і 0,5 см відповідно. ІМТ розраховували як масу тіла в кілограмах, поділену на квадрат зросту в метрах (вага/зріст²). ОТ пацієнта вимірювалась без одягу, на 1 см вище верхніх передніх гребенів клубової кістки, на видиху в положенні стоячи.

В основній групі було взято зразки крові у пацієнтів, які потрапили до лікарні під час активної фази ПКС. У групі порівняння кров було взято під час стандартного контрольного візиту протягом того ж періоду. Венозну кров брали після 12-годинного нічного голодування в пробірки ЕДТА (з кінцевою концентрацією 0,1% ЕДТА) та гелеві пробірки для забору крові з сепаратором сироватки.

Зразки крові були проаналізовані на загальний аналіз крові (Sysmex 550), базову метаболічну панель (AU-480, Beckman Coulter), рівень HbA1c (G8 HPLC Analyzer, Tosoh), високочутливого С-реактивного білка (вч-СРБ), аполіпопротеїн А та аполіпопротеїн В (AU-480, Beckman Coulter), вітамін D та інтерлейкін-6 (ІЛ-6) (Maglumi X8, Китай) у лабораторії, сертифікованій за стандартом ISO 15189 відповідно до інструкцій виробника та СОПів (Стандартних операційних процедур, SOPs).

Концентрацію 25(OH)D в сироватці крові оцінювали з допомогою електрохемілюмінесцентного білок-опосередкованого методу, який використовується для кількісного визначення вітаміну з внутрішньо- та міждослідницьким коефіцієнтом варіації <5.5% та <7,0% відповідно. Для аналізу використовується білок, що зв'язує вітамін D (vitamin D binding protein - VDBP) в якості каркасного білка, який зв'язується з обома формами 25-OH D₃ і 25(OH)D₂. В основі методу лежить 3-х етапний процес інкубації тривалістю 27 хвилин. На 1 етапі зразок сироватки інкубують з реагентом для попередньої обробки, який вивільняє загальний 25(OH)D₃ від VDBP. На етапі 2 попередньо оброблений зразок інкубують з міченим рутенієм VDBP, створюючи комплекс між 25(OH)D та рутенільованим VDBP [127]. Третій етап інкубації передбачає додавання покритих мікрочастинок стрептавідином і міченого біотином 25(OH)D. Вільні сайти рутенільованого VDBP стають зайнятими, утворюючи комплекс, що складається з міченого рутенієм VDBP і міченого біотином 25(OH)D. Весь комплекс зв'язується з твердою фазою через взаємодію біотину і стрептавідину [127]. На початковому етапі проводиться

GGCCATCCGTCGTCACSTTTTGTG–3'–

GGGGGGGGGGCGCCGCCGCCGCCGGGGAGGAAGTCTGCCGTT–3'

(кінцева концентрація кожного, 250 нмоль) було додано до 18 мкл реакційної суміші, що містить бетаїн з кінцевою концентрацією 1М (молярна концентрація).

Для визначення мтДНК використовувались наступні праймери: для D-петлі ((D-loop_MPLX_F 5'–
ACGCTCGACACACAGCACTTAAACACATCTCTGC–3' та D-loop_MPLX_R 5'–

GCTCAGGTCATACAGTATGGGAGTGRGAGGGRAAAA–3', кінцева концентрація кожного 450 нмоль), а також пари альбумінових праймерів (albu 5'–

CGGCGGCGGGCGGGCGGCCGGGGCTGGGCGGCTTCATCCACGTTTCACCTTG–3' та albd 5'–
GGCCGGCCCCGCCGCCGCCCGTCCCGCCGGAGGAGAAGTCTGCCGTT–3', кінцева концентрація кожного 250 нмоль).

Всі експериментальні зразки ДНК були проаналізовані тричі. Замість St використовувалися альтернативи пороговим циклам Cy0, як у Guescini et al. [130]. Було згенеровано дві стандартні криві, одна – для теломерного сигналу, а інша – для сигналу від гена з однією копією. Значення Cy0 використовували з калібрувальною кривою для визначення кількості теломер ДНК (T) відносно еталонної ДНК; дані про кількість альбуміну ДНК(S) були отримані аналогічним чином. Відносна довжина теломер визначалася як співвідношення T/S.

Замість значень St використовували значення Cy0, описані Guescini et al. [130]. Було створено дві стандартні криві: одна для сигналу мтДНК, а інша для сигналу генів з однією копією. Значення Cy0 були застосовані до калібрувальної кривої для оцінки кількості мтДНК (M) відносно еталонної ДНК. Аналогічно оцінювали кількість альбумінової ДНК (S). Відносний вміст мтДНК виражали як співвідношення M/S.

2.4 Статична обробка отриманих результатів

Статистичний аналіз виконували за допомогою стандартного пакету програм SPSS версії 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois), GraphPad Prism, версії 6.0 (GraphPad Software, Inc., Ла-Хойя, Каліфорнія, США), MedCalc® Statistical Software v. 22.026 (MedCalc Software Ltd., м. Остенд, Бельгія; <https://www.medcalc.org>; 2024) та STATISTICA Neural Networks R.4.0 С (StatSoft. Inc. 1998-1999). Для перевірки нормальності розподілу використовувався тест Шапіро–Вілکا. При нормальному розподілі кількісні зміни представлені у вигляді середньої величини та стандартного відхилення ($M \pm SD$), непараметричні кількісні дані у вигляді медіани та міжквартильного діапазону (Me, QI – QIII), якісні у вигляді %. Для оцінки відмінності кількісних показників в залежності від розподілу використовували t-критерій Стюдента для незалежних вибірок або тест Манна–Уїтні. При аналізі якісних змінних застосовували критерій χ^2 або точний тест Фішера. Для оцінки відмінності трьох і більше кількісних показників використовували однофакторний дисперсійний аналіз (One-Way ANOVA) і якщо результат був достовірним, виконувався апостеріорний тест Тускея. Дані з непараметричним розподілом аналізували з використанням критерію Крускала-Уолліса. Відмінності між порівнюваними групами вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

Взаємозв'язок між відносною довжиною теломер, мтДНК та основними параметрами оцінювали за допомогою одновимірного кореляційного аналізу Пірсона.

Інструменти машинного навчання та багатофакторний логістичний регресійний аналіз був застосований для оцінки того, чи може довжина теломер та мтДНК передбачити розвиток ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Ми використали пакет H2O.ai autoML для Python з відкритим доступом, що дозволяє використовувати його на локальному пристрої для забезпечення конфіденційності даних пацієнтів. Цей пакет полегшує визначення

релевантних значень (training) та перехресну перевірку різних поширених алгоритмів машинного навчання, включно з моделями збільшення/підсилення градієнта (GBM (Gradient Boosting Model – модель градієнтного бустінгу), XGBoost), загальними лінійними моделями (GLM, XRT, DRF) та моделями глибокого навчання (DL). Крім того, пакет генерує два типи складених ансамблевих моделей – один використовує всі раніше напрацьовані (trained) моделі, а інший інкорпорує кращу модель з кожної групи моделей одного виду. Більш детальна інформація про побудову кожної моделі та гіперпараметри, налаштовані за допомогою autoML, доступні в документації, наданій H2O.ai. До використання в роботі з моделями (training) всі неперервні значення піддавалися квантильному перетворенню. Після цього ми використали autoML для визначення релевантних значень (training) у 50 моделях за допомогою 5-кратної перехресної перевірки, ранжуючи їх на основі продуктивності. Ступінь значущості перестановок і значення SHAP (SHapley Additive exPlanations) були обраховані для визначення кращих 10 моделей.

Для вибору незалежних факторів ризику, пов'язаних з розвитком ПКС, використовувалися покрокові (поетапні) багатовимірні логістичні регресійні та імовірнісні моделі нейронної мережі (PNN). На першому етапі був обраний мінімальний набір змінних, пов'язаних з ризиком ПКС. Для відбору незалежних факторів ризику для багатовимірних логістичних регресійних моделей було виконано покрокове (поетапне) включення (врахування)/виключення (неврахування) змінних (покроково (поетапно) з $p_{enter} < 0,1$ та $p_{remove} > 0,2$), а також використано метод відбору за допомогою генетичного алгоритму (GA) для моделей PNN. Для моделей PNN всі пацієнти були випадковим чином (за допомогою генератора випадкових чисел) розділені на 3 набори: тренувальний (який використовувався для побудови моделі та розрахунку вагових коефіцієнтів нейронної мережі, $n=369$), тестовий (використовувався для запобігання перетренованості математичної моделі, $n=60$) та верифікаційний

(використовувався для перевірки передбачуваної здатності математичної моделі на нових даних для перенавчання керуючої моделі, $n=40$).

Діагностичні показники моделей оцінювали за допомогою ROC-аналізу. Було розраховано площу під кривою ROC (AUC) та її 95% довірчий інтервал (ДІ). Вважалося, що значення $p < 0,05$ вказує на статистичну значущість у всіх тестах. Оптимального порогові значення були обрані таким чином, щоб максимізувати суму чутливості та специфічності. Для цих граничних значень були обчислені позитивне (PPV) і негативне прогностичне значення (NPV) [131].

Комісія з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України розглянула матеріали кандидатської дисертації і вважає, що клініко-лабораторне та експериментальне дослідження не містить підвищеного ризику для суб'єктів дослідження щодо проведення подібних досліджень (протоколи засідання № 171 від 24.04.2023 та № 191 від 27.01.2025р.).

РОЗДІЛ 3

ВИЯВЛЕННЯ ФАКТОРІВ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

3.1. Загально-клінічні показники, анамнез COVID-19 та перебіг ЦД 2-го типу у обстежених пацієнтів

Приблизно 95% людей з діабетом у всьому світі мають ЦД 2-го типу. З 2000 по 2019 рік було зафіксовано збільшення стандартизованих за віком показників смертності від ЦД на 3% [18]. ЦД 2-го типу – це група метаболічних захворювань, спричинених ІР та зниженою секрецією інсуліну β-клітинами підшлункової залози [35, 36]. Пандемія коронавірусної хвороби (COVID-19) 2019 року, спричинена важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу 2 (SARS-CoV-2), стала глобальною проблемою [132].

ЦД 2-го типу є одним із найпоширеніших супутніх захворювань у пацієнтів, інфікованих вірусом SARS-CoV-2, з відносно високою частотою важкого перебігу COVID-19 [19, 20]. ЦД 2-го типу має двонаправлений зв'язок з COVID-19 [133]. Погано контрольований, декомпенсований ЦД 2-го типу посилює тяжкість перебігу COVID-19 і призводить до підвищення ризику госпіталізації та смертності [21, 22]. Потенційні механізми, що сприяють підвищенню сприйнятливості до інфекції SARS-CoV-2 та гіршому прогнозу у людей з ЦД 2-го типу, включають прозапальний стан, ослаблення імунної відповіді, можливий підвищений рівень ангіотензин-перетворюючого ферменту 2 типу (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2), судинну дисфункцію та протромботичний стан [134–136]. З іншого боку, екстремальна системна імунна відповідь («цитокіновий шторм»), пряма атака β-клітин підшлункової залози SARS-CoV-2 шляхом зв'язування з ACE2 та незбалансована імунна відповідь можуть, у свою чергу, призвести до порушень глікемічного профілю, неконтрольованої гіперглікемії та прогресування ІР у людей з ЦД 2-го типу [137, 138]. COVID-19 у поєднанні з

ЦД 2-го типу підвищує ризик госпіталізації та потребу в штучній вентиляції легенів, збільшуючи ймовірність розвитку постковідного синдрому (ПКС). ПКС, або як його ще називають тривалий COVID-19 (long COVID-19), підгострий COVID-19 (post-acute COVID-19), довгострокові наслідки COVID-19 (long-term effects of COVID-19), став новою проблемою для здоров'я людей, які одужують від інфекції COVID-19 протягом наступних 3- 6 місяців [5, 139]. Загальноприйнятим є, що ПКС виникає в осіб з імовірною або підтвердженою інфекцією SARS-CoV-2 в анамнезі, як правило, через 3 місяці від початку захворювання на COVID-19, які тривають щонайменше 2 місяці та не можуть бути пояснені альтернативним діагнозом. Загальні симптоми включають швидку стомлюваність, загальну слабкість, головний біль, втрату пам'яті, розсіяність уваги, депресію, тривалий кашель або задишку, безсоння, прискорене серцебиття, болі в кістках і суглобах, міалгії, шлунково-кишкові розлади та нечутливість до запахів і смаків [5]. Симптоми можуть виникати знову після початкового одужання після гострого епізоду COVID-19 або зберігатися після початкової хвороби. Симптоми також можуть змінюватися або рецидивувати з часом [5]. Один з наслідків ураження легенів у пацієнтів з інфекцією SARS-CoV-2, а саме легеневий фіброз, який може проявлятися у вигляді постійної задишки, що вимагає кисневої підтримки в період ПКС, частіше зустрічається у людей з погано контрольованим діабетом [139]. Не дивно, що двонаправлений зв'язок між діабетом і тривалим COVID-19 є серед найактуальніших наукових дискусій [72, 140].

Деякі дані свідчать про те, що діабет може бути фактором ризику розвитку ПКС [140, 141]. Останні дані також вказують на те, що вперше виниклий діабет може бути ускладненням COVID-19 і є метаболічним клінічним фенотипом ПКС [139, 142]. Водночас безпосередній зв'язок між ЦД 2-го типу і ПКС все ще обговорюються. Існує обмежена кількість досліджень щодо виникнення та поширеності ПКС у країнах з низьким та середнім рівнем доходу. У цьому підрозділі дисертаційного дослідження наші зусилля були спрямовані на визначення предикторів розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го

типу для подальшого планування профілактичних заходів та покращення результатів лікування пацієнтів [143].

Базові клінічні параметри пацієнтів ЦД 2-го типу обстежених пацієнтів представлені в **Таблиці 3.1**. Серед досліджуваних показників вік в основній групі становив 61 (54–67) і 60 (54–68) років ($p=0,900$) відповідно [143].

Таблиця 3.1 - Вихідні клінічні параметри ЦД 2-го типу у обстежених пацієнтів

Параметр	Група порівняння (без ПКС) (n=242)	Основна група (з ПКС) (n=227)	p
Вік, років	60 (54 – 68)	61 (54 – 67)	0,900
Вік старше 60 років, n (%)	130 (53,7)	134 (59)	0,264
Жінки, n (%)	115 (47,5)	124 (54,6)	0,139
Тривалість ЦД 2-го типу, років	11 (7 – 16)	10 (3 – 15)	0,015
Вперше діагностований ЦД 2-го типу, n (%)	17 (7,0)	43 (18,9)	<0,001
Вага, кг	88 (80 – 98)	88 (78 – 100)	0,994
Зріст, см	169 (165 – 176)	168 (163 – 177)	0,384
ІМТ, кг/м ²	29,8 (27,500 – 33,8)	30,7 (26,925 – 34)	0,881
HbA1c до, %	7,9 (7 – 9)	8,2 (7,2 – 10)	0,005
Неадекватний глікемічний контроль (HbA1c>7,5), n (%)	154 (63,6)	160 (70,5)	0,118

Примітка: дані представлені у вигляді Me (Q_I - Q_{III}) або n (кількісно) (%) у відсотках; ІМТ - індекс маси тіла; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

В основній групі було більше пацієнтів віком від 60 років (59% проти 53,7% у групі порівняння), хоча ці відмінності не були статистично значущими ($p=0,264$). У групі ПКС було 124 жінки (54,6%), проте частка жінок була нижчою серед пацієнтів без ПКС (115 з 242, 47,5%); однак різниця

по статі між групами не була достовірною ($p=0,139$). Ми також не виявили статистично значущих відмінностей по основним антропометричним параметрам, таким як маса пацієнтів ($p=0,994$) та ІМТ ($p=0,881$) (табл. 3.1).

В осіб, які страждали на ПКС, спостерігався незадовільний глікемічний контроль під час захворювання та вони мали вірогідно вищі значення HbA1c, ніж у групі порівняння (8,2% (7,2–10) проти 7,9% (7–9); $p=0,005$). Цікаво, що середня тривалість ЦД 2-го типу була меншою в основній групі 10 (3–15) років порівняно з групою порівняння – 11 (7–16) років ($p=0,015$) (табл. 3.1). Цей висновок був пояснений збільшенням захворюваності на вперше діагностований ЦД 2-го типу під час пандемії COVID-19, що представляє один із клінічних фенотипів ПКС. Кількість пацієнтів з вперше виявленим ЦД 2-го типу становила 43 з 224 пацієнтів основної групи (18,9%), водночас у групі порівняння було виявлено лише 17 осіб з вперше діагностованим ЦД 2-го типу (7,0%; $p<0,001$) (табл. 3.1) [143].

Крім того, окремо оцінювали випадки вперше виявленого ЦД 2-го типу. Вперше виниклий ЦД 2-го типу у групі ПКС діагностувався, коли він виникав під час або після гострої фази COVID-19 протягом 3 місяців ($n=43$). З групи порівняння ми включили до субаналізу пацієнтів із ЦД 2-го типу, у яких діабет був встановлений щонайменше за 3 місяців до COVID-19 ($n=17$). Встановлено, що нововиявлений ЦД 2-го типу із групи ПКС характеризувався більш агресивним перебігом порівняно з відповідними пацієнтами із групи порівняння (7,0 (6,5–8,8) проти 7,8% (6,5–9,4); $p=0,344$). Ми не виявили суттєвих відмінностей по середньому віку пацієнтів між групами (57,0 (47,5 – 69,0) проти 58,0 (45,0 – 64,0) років, $p=0,582$). Несподіваним, було те, що у пацієнтів з вперше виниклим ЦД 2-го типу з групи ПКС спостерігалась статистично значуще нижча маса тіла (88,0 (80,0 – 96,0) проти 97,0 (85,0 – 109,0) кг; $p=0,043$) та ІМТ (28,4 (25,2 – 31,2) проти 31,5 (28,4 – 38,1) кг/м²; $p=0,021$) у порівнянні з тими, у яких ПКС не розвинувся [143].

Оцінюючи клінічну симптоматику тривалого COVID-19 серед пацієнтів з ЦД 2-го типу, ми виявили, що найчастішим проявом ПКС була втома (59,5%), м'язові болі (49,3%), головний біль (44,1%), задишка (39,2%), новий або постійний кашель (31,7%), втрата або зміна нюху (31,3%), розлад сну (28,8%), аритмія (23,3%), шлунково-кишкові розлади (19,8%) і депресія (16,7%) (рис. 3.1) [143].

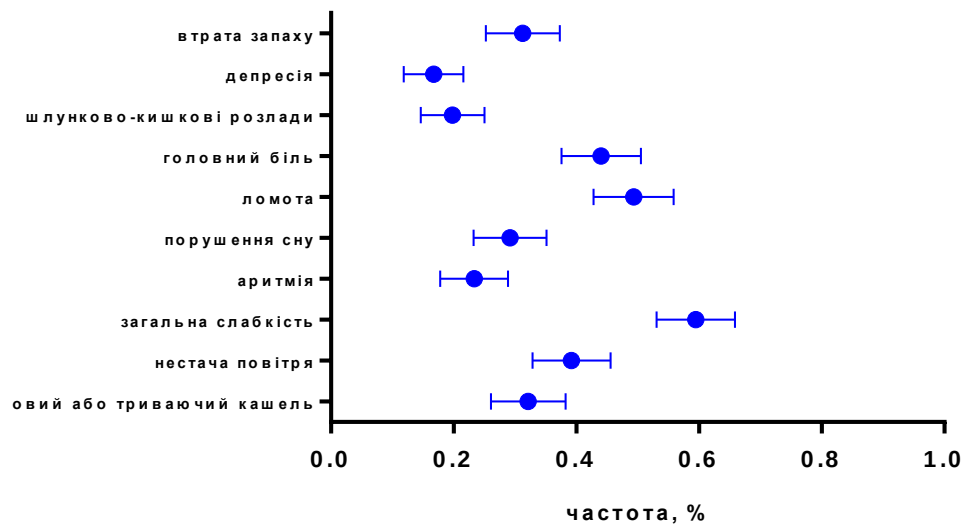


Рисунок 3.1 - Розподіл клінічних симптомів ПКС серед пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Варто зазначити, що пацієнтів із групи ПКС в анамнезі спостерігалась вища частота хронічних макросудинних ускладнень: 13,7% та 11,9% пацієнтів з ПКС повідомили про попередньо перенесений інфаркт міокарда та/або інсульт відповідно (табл. 3.2). Пацієнтів без ПКС повідомляли про вірогідно нижчу поширеність серцево-судинних ускладнень в анамнезі: 7,9% – для інфаркту міокарда ($p=0,051$) та 4,5% – для інсульту ($p=0,004$). З іншої сторони поширеність хронічних мікроvasкулярних ускладнень ЦД 2-го типу статистично значуще не відрізнялася між обстежуваними групами (табл. 3.2) [143].

Важливо зауважити, що розвиток ПКС був пов'язаний з вищим рівнем недотримання компленсу щодо прийому антидіабетичних засобів: 7,9% пацієнтів основної групи не дотримувалися рекомендацій щодо лікування,

водночас у групі порівняння цей відсоток був більш ніж удвічі статистично значуще нижчим (3,3%; $p=0,042$) [143].

Таблиця 3.2 - Особливості перебігу та лікування ЦД 2-го типу у обстежених пацієнтів

Параметр	Група порівняння (без ПКС) (n=242)	Основна група (з ПКС) (n=227)	p
Хронічне ускладнення ЦД 2-го типу			
Діабетична нефропатія, n (%)	71 (29,3)	54 (23,8)	0,210
Діабетична нейропатія, n (%)	160 (66,1)	147 (64,8)	0,771
Діабетична ретинопатія, n (%)	119 (49,2)	98 (43,2)	0,196
Діабетична стопа, n (%)	43 (17,8)	26 (11,5)	0,067
Інфаркт міокарда, n (%)	19 (7,9)	31 (13,7)	0,051
Інсульт, n (%)	11 (4,5)	27 (11,9)	0,004
Без ускладнень, n (%)	51 (21,1)	60 (26,4)	0,120
Лікування ЦД 2-го типу			
Медикаментозне лікування відсутнє, n (%)	8 (3,3)	18 (7,9)	0,042
Метформін, n (%)	161 (66,5)	156 (68,7)	0,623
Похідні сульфонілсечовини, n (%)	86 (35,5)	68 (30)	0,203
Інгібітори ДДП- 4, n (%)	20 (8,3)	10 (4,4)	0,093
Агоністи рецепторів ГПП-1, n (%)	9 (3,7)	13 (5,7)	0,383
Антагоністи НЗКТГ-2, n (%)	21 (8,7)	33 (14,5)	0,059
Агоністи PPAR-γ, n (%)	3 (1,2)	0 (0)	0,249
Людський інсулін, n (%)	58 (24)	36 (15,9)	0,029
Аналоги інсуліну, n (%)	30 (12,4)	53 (23,3)	0,002

Примітка: Дані представлені у вигляді $Me (Q_I - Q_{III})$ або n (кількісно) (%) у відсотках; ДДП-4 - дипептидилпептидази-4, НЗКТГ-2 - натрій-глюкозний котранспортер 2-го типу, ГПП-1 - глюкагоноподібний пептид-1, PPAR-γ - гамма-рецептор, активований проліфератором пероксисом.

Ми також виявили статистично значущу різницю у лікуванні людським інсуліном та його аналогами у групах спостереження: пацієнти без ПКС частіше застосовували людський інсулін (24% проти 15,9%; $p=0,029$), а аналоги інсуліну частіше використовувались для лікування ЦД у пацієнтів основної групи (23,3% проти 12,4%; $p=0,002$). Що стосується лікування ЦД 2-го типу пероральними цукрознижувальними засобами, то ми не виявили суттєвих відмінностей між частотою використання даних препаратів між групами (табл. 3.2) [143].

Таблиця 3.3 - Анамнез та лікування COVID-19 у обстежених пацієнтів

Параметр	Група порівняння (без ПКС) (n=242)	Основна група (з ПКС) (n=227)	p
Тяжкість перебігу COVID-19 (ВООЗ), n (%)			
Легкий	107 (44,2)	85 (37,4)	<0,001
Середньої тяжкості без госпіталізації	91 (37,6)	55 (24,2)	
Середньої тяжкості з госпіталізацією	40 (16,5)	65 (28,6)	
Важкий перебіг	4 (1,7)	22 (9,7)	
Без лікування, n (%)	23 (9,5)	14 (6,2)	0,230
Добавки/НПЗП, % (n)	203 (83,9)	190 (83,7)	0,999
Антибіотики, % (n)	157 (64,9)	152 (67)	0,697
O ₂ терапія, % (n)	61 (25,2)	71 (31,3)	0,152
Глюкокортикоїди, % (n)	61 (25,2)	97 (42,7)	<0,001
Штучна вентиляція легенів, % (n)	1 (0,4)	16 (7)	<0,001

Примітка: Дані представлені у вигляді Me (Q_I - Q_{III}) або n (кількісно) (%) у відсотках; НПЗП - нестероїдні протизапальні препарати; ВООЗ - Всесвітня організація охорони здоров'я; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

ПКС був пов'язаний з більшою частотою госпіталізації та більш важким перебігом COVID-19 (табл. 3.3). Порівнюючи перебіг COVID-19, ми виявили, що в групі порівняння більшість пацієнтів мали легкий (107; 44,2%) або помірний перебіг COVID-19 без госпіталізації (91; 37,6%), і лише відносно невелика частина групи мала помірний перебіг з госпіталізацією (40; 16,5%) або важкий перебіг COVID-19 (4; 1,7%). На противагу цьому, приблизно 40% основної групи повідомили про тяжке (22; 9,7%) або помірне захворювання, при цьому госпіталізація (65; 28,6%) вплинула на подальший розвиток ПКС ($p < 0,001$) [143].

Також були особливості, пов'язані з лікуванням гострої фази COVID-19. Враховуючи підвищену частоту госпіталізацій та тяжкий перебіг COVID-19, група ПКС повідомила про значне збільшення частоти призначення глюкокортикоїдів (42,7% проти 25,2%; $p < 0,001$) та штучної вентиляції легень (7% проти 0,4%; $p < 0,001$) через тяжкість COVID-19. При цьому відмінностей у призначенні НПЗЗ, антибіотиків або O_2 терапії між групами ми не виявили (табл. 3.3) [143].

3.2. Вивчення впливу наявності ожиріння на перебіг ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу

Оскільки ожиріння саме по собі є імунометаболічним розладом, який сприяє секреції прозапальних цитокінів, знижує чутливість до інсуліну [144] і модулює ретенцію вірусу SARS-CoV2 [145], ми провели субаналіз для оцінки впливу ожиріння на розвиток ПКС і тяжкість перебігу COVID-19. Пацієнти основної групи були розділені на дві підгрупи, в залежності від рівня ІМТ: з ІМТ $< 30 \text{ кг/м}^2$ ($n=110$) та пацієнти з ожирінням (ІМТ $\geq 30 \text{ кг/м}^2$, $n=117$).

Варто зазначити, що пацієнти з ПКС та без нього не відрізнялися за середнім значенням ІМТ (див табл. 3.1). Подібним чином не було відмінностей по частоті ожиріння між пацієнтами із ПКС та групою порівняння. Частка осіб з ожирінням становила 51,5% (117 з 227) у групі ПКС,

що є співставним із значенням у групі порівняння (116 з 242; 47,8%; $p=0,435$). Також, серед 233 пацієнтів із ЦД 2-го типу та коморбідним ожирінням близько половини (117; 50,2%) повідомили про симптоми ПКС, а решта – ні, демонструючи відсутність впливу ожиріння на розвиток ПКС у спостережуваній когорті [143].

Таблиця 3.4 - Вихідні клінічні параметри пацієнтів з ПКС та ЦД 2-го типу в залежності від наявності ожиріння

Параметр	ІМТ <30 кг/м ² (n=110)	ІМТ ≥30кг/м ² , (n=117)	p
Вік, років	61,0 (53,0 – 66,3)	62,0 (55,0 – 68,0)	0,308
Вік старше 60 років, n (%)	61 (55,5)	73 (62,4)	0,288
Жінки, n (%)	63 (57,3)	61 (52,1)	0,437
Тривалість ЦД 2-го типу, років	8,5 (2,8 – 14,0)	11,0 (5,0 – 17,0)	0,013
Вперше діагностований ЦД 2-го типу, n (%)	27 (24,5)	16 (13,7)	0,037
Вага, кг	78,0 (68,0 – 87,0)	99,0 (89,5 – 110,0)	<0,001
Зріст, см	172,0 (165,0 – 179,0)	167,0 (162,5 – 176,0)	0,042
ІМТ, кг/м ²	26,9 (24,0 – 28,0)	33,7 (32,0 – 37,1)	<0,001
HbA1c до, %	8,2 (7,2 – 10,0)	8,3 (7,2 – 10,0)	0,991

Примітка: дані представлені у вигляді Me (Q_I - Q_{III}) або n (кількісно) (%) у відсотках; ІМТ - індекс маси тіла; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

Дані, що представляють загально-клінічні параметри в пацієнтів основної групи в залежності від наявності ожиріння представлені в **таблиці 3.4**. Важливо, що тривалість ЦД 2-го типу у пацієнтів із нормальною/надлишковою вагою була статистично значущо меншою порівняно з підгрупою ожирінням (8,5 (2,8 – 14,0) проти 11,0 (5,0 – 17,0) років, $p=0,013$) [143].

Таблиця 3.5 - Особливості перебігу та лікування ЦД 2-го типу у пацієнтів основної групи в залежності від наявності ожиріння

Параметр	ІМТ <30 кг/м ² (n=110)	ІМТ ≥30кг/м ² , (n=117)	p
Хронічне ускладнення ЦД 2-го типу			
Діабетична нефропатія, n (%)	24 (21,8)	30 (25,6)	0,499
Діабетична нейропатія, n (%)	65 (59,1)	82 (70,1)	0,083
Діабетична ретинопатія, n (%)	45 (40,9)	53 (45,3)	0,505
Діабетична стопа, n (%)	11 (10,0)	15 (12,8)	0,505
Інфаркт міокарда, n (%)	13 (11,8)	18 (15,4)	0,434
Інсульт, n (%)	16 (14,5)	11 (9,4)	0,232
Без ускладнень, n (%)	31 (28,2)	29 (24,8)	0,562
Лікування ЦД 2-го типу			
Медикаментозне лікування відсутнє, n (%)	9 (8,2)	9 (7,7)	0,891
Метформін, n (%)	68 (61,8)	87 (74,4)	0,090
Похідні сульфонілсечовини, n (%)	31 (28,2)	37 (31,6)	0,572
Інгібітори ДДП- 4, n (%)	5 (4,5)	5 (4,3)	0,921
Агоністи рецепторів ГПП-1, n (%)	3 (2,7)	10 (8,5)	0,059
Антагоністи НЗКТГ-2, n (%)	18 (16,4)	15 (12,8)	0,449
Людський інсулін, n (%)	14 (12,7)	22 (18,8)	0,210
Аналоги інсуліну, n (%)	31 (28,2)	22 (18,8)	0,095

Примітка: Дані представлені у вигляді Me (Q_I - Q_{III}) або n (кількісно) (%) у відсотках; ДДП-4 - дипептидилпептидази-4, НЗКТГ-2 - натрій-глюкозний котранспортер 2-го типу, ГПП-1 - глюкагоноподібний пептид-1.

Профіль хронічних ускладнень ЦД 2-го типу та режими протидіабетичної терапії статистично значуще не відрізнялися між підгрупами в залежності від наявності ожиріння (**табл. 3.5**) [143].

Таблиця 3.6 - Анамнез та лікування COVID-19 у пацієнтів групи ПКС в залежності від наявності ожиріння

Параметр	ІМТ <30 кг/м ² (n=110)	ІМТ ≥30кг/м ² , (n=117)	p
Тяжкість перебігу COVID-19 (ВООЗ), n (%)			
Легкий	51 (46,4)	34 (29,1)	0,011
Середньої тяжкості без госпіталізації	26 (23,6)	29 (24,8)	
Середньої тяжкості з госпіталізацією	28 (25,5)	37 (31,6)	
Важкий перебіг	5 (4,5)	17 (14,5)	
Без лікування, n (%)	8 (7,3)	6 (5,1)	0,488
Добавки/НПЗП, % (n)	94 (85,5)	96 (82,1)	0,502
Антибіотики, % (n)	70 (63,6)	82 (70,1)	0,302
O ₂ терапія, % (n)	28 (25,5)	43 (36,8)	0,067
Глюкокортикоїди, % (n)	34 (30,9)	63 (53,8)	<0,001
Штучна вентиляція легенів, % (n)	2 (1,8)	4 (3,4)	0,452

Примітка: Дані представлені у вигляді Me (Q_I - Q_{III}) або n (кількісно) (%) у відсотках; НПЗП - нестероїдні протизапальні препарати; ВООЗ - Всесвітня організація охорони здоров'я; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

У людей із ожирінням із ЦД 2-го типу частіше діагностували середній та важкий перебіг гострої форми інфекції COVID-19 порівняно з пацієнтами з ІМТ <30 (46,1% проти 30,0%, p=0,011; **табл. 3.6**). Крім того, призначення глюкокортикоїдів було статистично значущо більш частим у пацієнтів із ожирінням і ЦД 2-го типу (53,8 % проти 30,9 %; p<0,001; **табл. 3.6**) протягом курсу COVID-19. По іншим клініко-анамнестичним параметрам та особливостями перебігу і лікування пацієнти у суб-аналізі в залежності від наявності ожиріння статистично значуще не відрізнялись (**табл. 3.6**) [143].

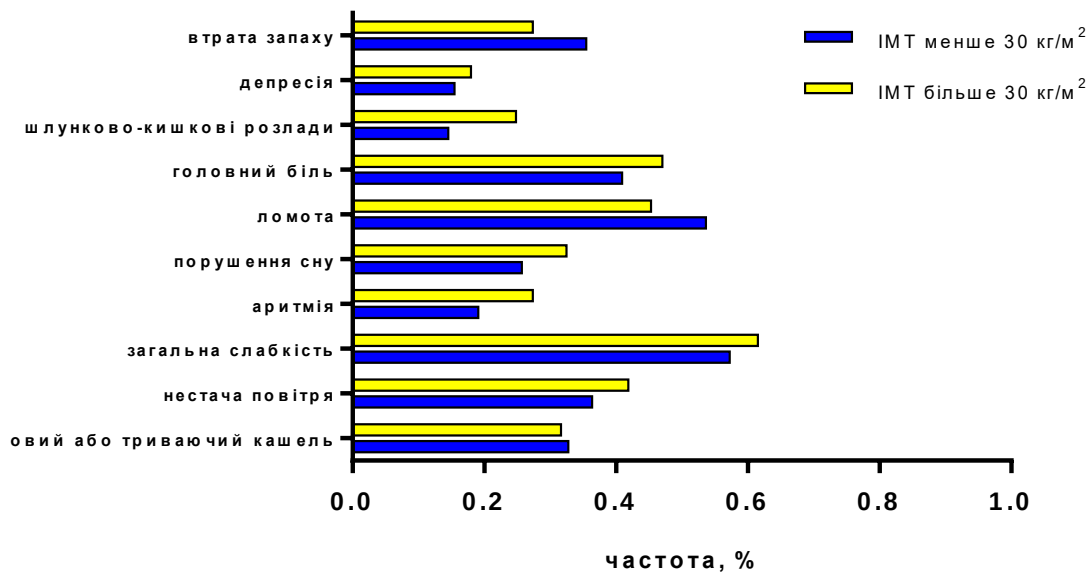


Рисунок 3.2 - Розподіл клінічних симптомів ПКС серед пацієнтів основної групи в залежності від наявності ожиріння.

Пацієнти з нормальною/надмірною вагою та ЦД 2-го типу частіше порівняно з учасниками з підгрупи ожиріння скаржилися на новий або постійний кашель (32,7 проти 31,6%; $p=0,859$), ломоту (53,6 проти 45,3%; $p=0,209$) та втрату нюху (35,5 проти 27,4%; $p=0,188$). Поширеність інших симптомів, таких як втома, головний біль, задишка, порушення сну, аритмія, шлунково-кишкові розлади та депресія, була вищими в підгрупі з ожирінням. Проте, варто відзначити, що поширеність клінічних симптомів між підгрупами ПКС статистично значуще не відрізнялася (**рис. 3.2**) [143].

Таким чином, коморбідне ожиріння посилює тяжкість перебігу гострої інфекції COVID-19, але не впливає на розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

3.3. Виявлення прогностичних факторів ризику розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу

В подальшому в нашому дослідженні ми вирішили виявити прогностичні фактори, що сприяють виникненню ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го

типу. Одновимірний логістичний регресійний аналіз виявив такі незалежні предиктори асоційовані із розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу: вперше діагностований ЦД 2-го типу ($p<0,001$), поганий глікемічний контроль з HbA1c вище 9,2% ($p<0,001$), інфаркт міокарда ($p=0,044$) або інсульт в анамнезі ($p=0,005$), лікування ЦД 2-го типу аналогами інсуліну ($p=0,002$), середньоважкий перебіг COVID-19 ($p<0,001$), лікування COVID-19 глюкокортикоїдами ($p<0,001$) та необхідність штучної вентиляції легень ($p=0,005$). На противагу цьому, використання людського інсуліну (ВШ 0,598; 95% ДІ 0,377-0,950; $p=0,029$) мало протекторний вплив на розвиток ПКС (табл. 3.7) [143].

Таблиця 3.7 - Одновимірний логістичний регресійний аналіз для виявлення предикторів розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу

Змінні		Подія/Загальна кількість	Відношення шансів	95% ДІ	p
Діабетична стопа	Ні	201/400	0,599	0,354-1,012	0,055
	Так	26/69			
Діабетична нефропатія	Ні	173/344	0,752	0,498-1,135	0,175
	Так	54/125			
Діабетична ретинопатія	Ні	129/252	0,785	0,546-1,130	0,193
	Так	98/217			
Діабетична нейропатія	Ні	80/162	0,942	0,643-1,378	0,757
	Так	147/307			
Вік	≤ 60 років	93/205	1,241	0,861-1,790	0,247
	> 60 років	134/264			
Тривалість ЦД 2-го типу	≥ 5 років	184/409	3,093	1,707-5,604	$<0,001$
	Вперше виявлений	43/60			
Стать	Чоловіча	103/230	1,33	0,925-1,912	0,124
	Жіноча	124/239			
Відсутність ускладнень	Ні	167/358	1,346	0,878-2,063	0,173
	Так	60/111			
Інфаркт міокарда	Ні	196/419	1,856	1,016-3,391	0,044
	Так	31/50			
HbA1c	$>9,2$	148/342	2,157	1,421-	$<0,001$
	$\leq 9,2$	79/127			

				3,276	
Інсульт	Ні	200/431	2,835	1,371- 5,860	0,005
	Так	27/38			
Лікування ЦД 2-го типу					
Агоністи PPAR-γ	Ні	227/466	0,15	0,0077- 2,928	0,191
	Так	0/3			
Інгібітори ДПП-4	Ні	217/439	0,512	0,234- 1,118	0,093
	Так	10/30			
Людський інсулін	Ні	191/375	0,598	0,377- 0,950	0,029
	Так	36/94			
Сульфонілсечовина	Ні	159/315	0,776	0,527- 1,143	0,199
	Так	68/154			
Метформін	Ні	71/152	1,098	0,745- 1,618	0,635
	Так	155/316			
Агоністи рецепторів ГПП-1	Ні	214/447	1,573	0,659- 3,754	0,308
	Так	13/22			
Інгібітори НЗКТГ-2	Ні	194/415	1,79	1,002- 3,198	0,051
	Так	33/54			
Аналоги інсуліну	Ні	174/386	2,152	1,318- 3,516	0,002
	Так	53/83			
Без лікування	Ні	209/443	2,519	1,073- 5,914	0,034
	Так	18/26			
Перебіг захворювання на COVID-19					
Без лікування	Ні	213/432	0,626	0,314- 1,249	0,184
	Так	14/37			
Добавки/НПЗП	Ні	37/76	0,987	0,604- 1,613	0,957
	Так	190/393			
Антибіотики	Ні	75/160	1,097	0,749- 1,608	0,476
	Так	152/309			
O ₂ терапія	Ні	156/337	1,35	0,902- 2,022	0,145
	Так	71/132			
Глюкокортикоїди	Ні	130/311	2,214	1,497- 3,275	<0,001
	Так	97/158			
Ступінь тяжкості COVID-19	<=2	140/338	2,796	1,833- 4,266	<0,001
	>2	87/131			
Штучна вентиляція легень	Ні	211/452	18,275	2,403- 138,973	0,005
	Так	16/17			

Для відбору найбільш інформативних факторів ризику був застосований багатофакторний логістичний регресійний аналіз. В результаті селекції було відібрано наступні 8 незалежних факторів, пов'язаних з ризиком розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу: вперше діагностований ЦД 2-го типу (ВШ 4,86; 95% ДІ 2,55 – 9,28; $p < 0,001$), жіноча стать (ВШ 1,29; 95% ДІ 0,86 – 1,94; $p = 0,220$), тяжкість COVID-19 (ВШ 1,35 95% ДІ 1,05 – 1,70; $p = 0,018$), наявність інфаркту міокарда (ВШ 2,42 95% ДІ 1,26 – 4,64; $p = 0,002$) та інсульту (ВШ 3,68 95% ДІ 1,70 – 7,96; $p = 0,001$) в анамнезі, HbA1c вище 9,2% (ВШ 2,17 95% ДІ 1,37 – 3,43; $p = 0,001$), використання аналогів інсуліну (ВШ 2,28 95% ДІ 1,31 – 3,94; $p = 0,003$) порівняно з людським інсуліном (ВШ 0,67 95% ДІ 0,39 – 1,15; $p = 0,146$), як зазначено в **таблиці 3.8** [143].

Таблиця 3.8 - Параметри 8-факторної логістичної регресійної моделі для прогнозування ризиків ПКС

Фактор		$b \pm m$	p	ВШ (95% ДІ)
Ступінь тяжкості COVID-19		$0,29 \pm 0,12$	0,018	1,35 (1,05 – 1,70)
Штучна вентиляція легень		$2,85 \pm 1,08$	0,008	17,4 (2,11 – 143)
Інфаркт міокарда		$0,88 \pm 0,33$	0,008	2,42 (1,26 – 4,64)
Стать (жінки vs чоловіки)		$0,25 \pm 0,21$	0,220	1,29 (0,86 – 1,94)
Інсульт		$1,30 \pm 0,39$	0,001	3,68 (1,70 – 7,96)
HbA1c (>9,2 vs ≤9,2)		$0,77 \pm 0,23$	0,001	2,17 (1,37 – 3,43)
Тривалість ЦД 2-го типу	≥5 років	Референс		
	Вперше виявлений	$1,58 \pm 0,33$	<0,001	4,86 (2,55 – 9,28)
Інсулін	Без інсуліну	Референс		
	Людський інсулін	$-0,40 \pm 0,28$	0,146	0,67 (0,39 – 1,15)
	Аналоги інсуліну	$0,82 \pm 0,28$	0,003	2,28 (1,31 – 3,94)

AUROC моделі становив 0,74 (95% ДІ 0,697 - 0,779; $p < 0,001$) (рис. 3.3).

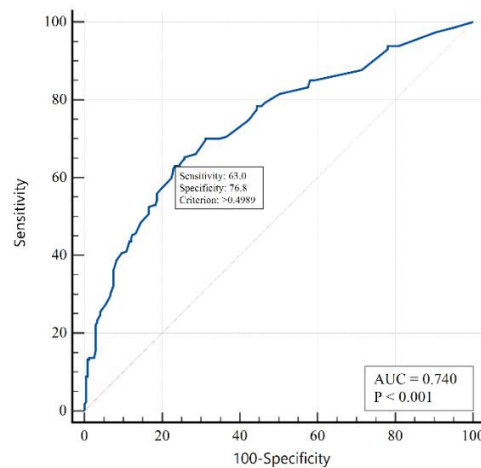


Рисунок 3.3 - ROC-аналіз для прогнозування ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го на основі логістичної регресійної моделі.

Дана модель продемонструвала помірну діагностичну цінність, що відображено в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 - Діагностична цінність запропонованих моделей для прогнозування ПКС

Параметр	8-факторна логістика	8-факторний MLP
Порогове значення	>0,4989	>0,4792
Чутливість, % (95% ДІ)	63,0 (56,4 – 69,3)	71,4 (65,0 - 77,2)
Специфічність, % (95% ДІ)	76,8 (70,9 – 81,9)	76,0 (70,1 - 81,3)
NPV, % (95% ДІ)	68,8 (64,7 – 72,6)	73,9 (69,5 - 77,9)
PPV, % (95% ДІ)	71,9 (66,5 – 76,6)	73,6 (68,7 - 78,0)
-LR, (95% ДІ)	0,48 (0,40 – 0,58)	0,38 (0,30 - 0,47)
+LR, % (95% ДІ)	2,71 (2,11 – 3,48)	2,98 (2,34 - 3,78)
AUROC	0,740	0,808
95% ДІ	0,697 – 0,779	0,770 – 0,843
p (AUROC)	<0,001	<0,001

Примітка: NPV – негативне прогностичне значення, PPV – позитивне прогностичне значення, LR – відношення правдоподібності, AUROC – площа під кривою ROC, 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для AUC.

Також з використанням ймовірнісної нейронної мережі (PNN, probabilistic neural network) побудовано прогностичну модель на основі нелінійних зв'язків між змінними та кінцевими точками. Ми використовували багатошаровий перцептрон (MLP, multilayer perceptron) з одним прихованим шаром. Архітектура прихованого шару мала 3 нейрони з функцією логістичної активації (**рис. 3.4**) [143].

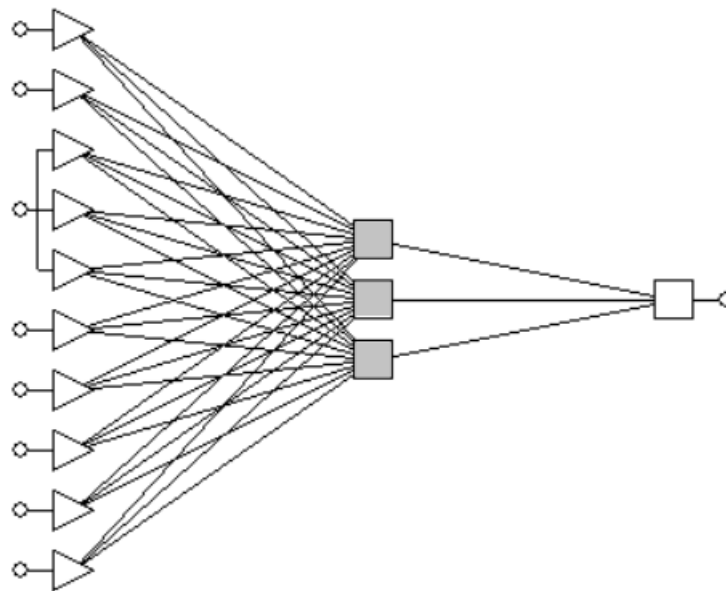


Рисунок 3.4 - Характеристики 8-факторної MLP моделі для прогнозування ПКС. Світлі трикутники представляють нейрони у вхідному шарі. Сірі квадрати відповідають нейронам у прихованому шарі. Білий квадрат вказує на вихідний шар.

Згідно з ROC-аналізом, AUROC для моделі MLP становила 0,808 (95% ДІ 0,770 - 0,843, $p < 0,001$) (**рис. 3.5**). Оптимальне порогове значення для цієї моделі було обрано на основі індексу Юдена ($> 0,490$). При застосуванні оптимального порогу були виявлені наступні діагностичні характеристики моделі: чутливість - 71,4% (95% ДІ 65,0 - 77,2%); специфічність - 76,0% (95%

ДІ 70.1 - 81.3%); PPV - 73,6% (95% ДІ 68,7 - 78,0%) та NPV - 73,9% (95% ДІ 69,5 - 77,9%) (див **табл. 3.9**) [143].

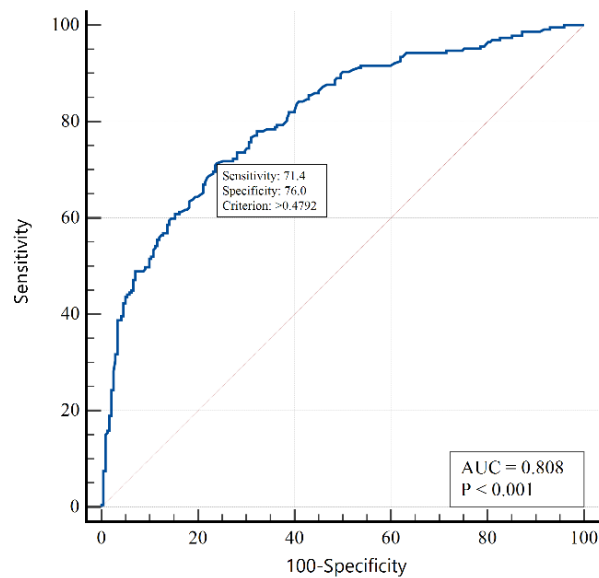


Рисунок 3.5 - ROC-аналіз для прогнозування ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го на основі MLP моделі

Результати прогнозування з використанням нейронних мереж були значно кращими, ніж у логістичної моделі ($p < 0,001$). Результати попарних порівнянь кривих ROC представлені на **рисунку 3.6** [143].

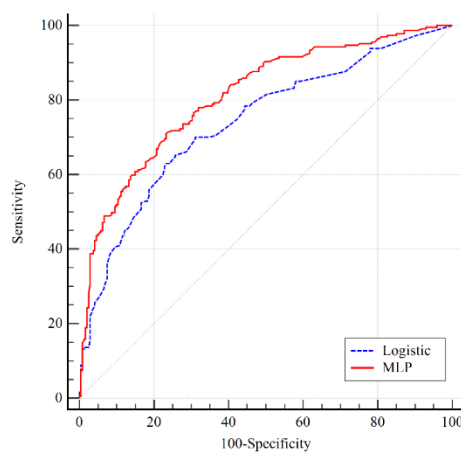


Рисунок 3.6 - Попарне порівняння ROC-кривих між моделями.

Це вказує на наявність нелінійності в залежності між ризиком розвитку ПКС та факторами, які не можуть бути врахованими в простій регресійній моделі.

Резюме. Загалом у ретроспективному етапі дослідженні взяли участь 469 пацієнтів з різних регіонів України. З поміж них 227 пацієнтів повідомили про розвиток ПКС (основна група), водночас 242 пацієнти не заявляли про симптоми ПКС (група порівняння). Для вибору незалежних факторів ризику розвитку ПКС використовували багатофакторний логістичний регресійний аналіз та ймовірнісну нейронну мережу (PNN).

На основі даних опитування було обрано 8 незалежних факторів, асоційованих з ризиком розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу за моделями логістичної регресії та PNN. В результаті селекції було відібрано наступні фактори: вперше діагностований ЦД 2-го типу (ВШ 4,86; 95% ДІ 2,55 – 9,28; $p < 0,001$), жіноча стать (ВШ 1,29; 95% ДІ 0,86 – 1,94; $p = 0,220$), тяжкість COVID-19 (ВШ 1,35 95% ДІ 1,05 – 1,70; $p = 0,018$), наявність інфаркту міокарда (ВШ 2,42 95% ДІ 1,26 – 4,64; $p = 0,002$) та інсульту (ВШ 3,68 95% ДІ 1,70 – 7,96; $p = 0,001$) в анамнезі, HbA1c вище 9,2% (ВШ 2,17 95% ДІ 1,37 – 3,43; $p = 0,001$), використання аналогів інсуліну (ВШ 2,28 95% ДІ 1,31 – 3,94; $p = 0,003$) порівняно з людським інсуліном (ВШ 0,67 95% ДІ 0,39 – 1,15; $p = 0,146$). Згідно з ROC аналізом 8-факторна MLP модель продемонструвала вищу діагностичну цінність (AUC 0,808; 95% ДІ 0,770–0,843), що дозволило прогнозувати ризик розвитку ПКС з чутливістю 71,4%, специфічністю 76%, PPV 73,6% та NPV 73,9%.

В суб-аналізі пацієнтів основної групи, встановлено, що коморбідне ожиріння посилює тяжкість перебігу гострої інфекції COVID-19, але не впливає на розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Вперше виявлений ЦД 2-го типу, який діагностований під час або після гострої фази COVID-19, частіше спостерігається в осіб із нормальною/надмірною вагою та характеризується більш агресивним

перебігом порівняно з відповідними пацієнтами із початком ЦД 2-го типу до перенесеної COVID-19 інфекції.

Матеріали по розділу опубліковані в наступних публікаціях:

1. Matviichuk A, Yerokhovych V, Zemskov S, Ilkiv Y, Gurianov V, Shaienko Z, Falalyeyeva T, Sulaieva O, Kobyliak N (2024) Unveiling Risk Factors for Post-COVID-19 Syndrome Development in People with Type 2 Diabetes. Front. Endocrinol, 15, 1459171, <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1459171>.

2. Matviichuk A, Gurianov V, Yerokhovych V, Livkutnyk O, Falalyeyeva T, Komisarenko I, Sulaieva O, Kobyliak N (2024) Prediction of post-COVID syndrome development in type 2 diabetes: retrospective analysis based on national survey in Ukraine. 26th European Congress of Endocrinology, Stockholm, Sweden, May 11-14, 2024, Endocrine Abstracts, 2024, 99, EP279, <https://doi.org/10.1530/endoabs.99.EP279>.

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР У ПРОГНОЗУВАННІ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

4.1. Загальна характеристика учасників дослідження

Нещодавній спалах важкого гострого респіраторного синдрому, спричиненого коронавірусом 2 (SARS-CoV-2) та пов'язаною з ним коронавірусною інфекцією (COVID-19), в якій запалення відіграє вирішальну роль, охопив міжнародне співтовариство та викликав широке занепокоєння у сфері охорони здоров'я [1, 66]. Зазначимо, що ожиріння та ЦД 2-го типу були найсерйознішими факторами ризику розвитку важких форм COVID-19, спричиняючи різні ускладнення, та асоціювалися з високим рівнем смертності [12]. ПКС став новою проблемою для здоров'я у людей, які одужують від інфекції COVID-19, протягом останніх 3–6 місяців і характеризується набором симптомів: втома, біль у м'язах, кашель, сонливість, головний біль тощо [5]. Зараз обговорюється двонаправлений зв'язок між цукровим діабетом і тривалим COVID-19 [72, 140]. Деякі дані свідчать про те, що ЦД може бути фактором ризику розвитку ПКС [140]. Останні дані також вказують на те, що цукровий діабет може бути ускладненням COVID-19 і є метаболічним клінічним фенотипом ПКС [139, 142]. Однак про конкретні зв'язки між ЦД 2-го типу та ПКС все ще дискутують.

Вивчення генетичного коду старіння є дуже актуальною темою на сьогоднішній день [146]. Фізіологічні процеси старіння та вплив патологічних змін можуть ґрунтуватися на довжині та якості теломер, які захищають ДНК від пошкоджень [147]. Теломери лейкоцитів можуть бути сурогатним відображенням генетичного годинника [148]. Зменшення довжини теломер та їх вкорочення пов'язані зі збільшенням частоти серцево-судинних захворювань, захворювань дихальної й травної систем та кістково-м'язового

апарату [149–151]. Укорочення теломер спостерігають у людей з гострими й хронічними захворюваннями, шкідливими звичками, стресами, інтоксикаціями [152–155]. Також було доведено, що зміна способу життя, дієта та деякі ліки можуть збільшити довжину теломер, запобігаючи захворюванню [91].

Слід зауважити, що вкорочення теломер вважається маркером тяжкості перебігу COVID-19 і пов'язане зі смертністю [91]. Природно, що фізіологічне старіння викликає зменшення розмірів теломер, зниження проліферації клітин і вичерпування репаративних можливостей [97]. Вважається, що люди похилого віку більш схильні до COVID-19 на рецепторному рівні через пошкодження або вкорочення теломер. Це призводить до вивільнення ACE-2 та реакції на пошкодження ДНК (DNA damage response, DDR), що призводить до посилення тяжкості захворювання, частіших ускладнень, госпіталізацій та смертності [97].

Ще один аргумент, що доводить роль теломер у процесі старіння, був продемонстрований у дослідженні на мишах з важкою формою вірусної пневмонії. Макрофаги з укороченими теломерами були виявлені в легеневій тканині, а їх прискорене старіння було викликано мітохондріальним дистресом і аномальною активацією STING- (Stimulator of Interferon Genes, трансмембранний білок) і NLRP3- (кріопірин) інфламмасом. Такі результати можуть пояснити концепцію вродженого імунного старіння та спонукати до вивчення ролі сенолітиків у симптоматичній підтримці тяжкої вірусної пневмонії у людей похилого віку [156].

Останні дані щодо довжини теломер у пацієнтів з ПКС дуже мізерні й обмежені кількома повідомленнями, продемонстрували її вкорочення переважно при пульмонологічних ускладненнях [92, 157, 158].

Цей розділ власних досліджень спрямований на визначення зв'язку між довжиною лейкоцитарних теломер та клінічними особливостями, особистим анамнезом, маркерами запалення та метаболічним профілем у пацієнтів з ЦД 2-го типу, які страждають на ПКС з різними клінічними фенотипами.

Загалом ми обстежили 68 пацієнтів з ЦД 2-го типу, які перехворіли на COVID-19 у 2023 році. В основній групі (n=46) спостерігалися клінічні ознаки ПКС різної тривалості та тяжкості. Група порівняння (n=22) не повідомляла про розвиток ПКС більш ніж через 6 місяців після інфікування COVID-19. Середній вік був порівняно однаковим у двох групах ($62,09 \pm 9,46$ проти $62,04 \pm 11,11$ років, $p=0,98$).

Результати антропометричних показників представлені в **таблиці 4.1**. Слід зазначити, що пацієнти з ПКС мали більшу вагу, ОТ та ІМТ. Однак різниця між групами не була статистично значимою.

Таблиця 4.1 - Загальна характеристика антропометричних показників пацієнтів

Параметр	ПКС відсутній (n=22)	ПКС присутній (n=46)	p
Вік, років	$62,09 \pm 9,46$	$62,04 \pm 11,11$	0,986
Тривалість ЦД2, років	$10,68 \pm 8,06$	$9,73 \pm 7,03$	0,624
Вага, кг	$86,59 \pm 12,12$	$88,80 \pm 16,40$	0,576
Індекс маси тіла, $\text{кг}/\text{м}^2$	$29,63 \pm 4,60$	$30,89 \pm 6,08$	0,391
Окружність талії, см	$98,22 \pm 12,61$	$100,08 \pm 12,94$	0,578

Примітка: дані представлені у вигляді $M \pm SD$ або n (кількісно) (%) у відсотках; ПКС - постковідний синдром.

Середня тривалість ЦД 2-го типу у хворих на ПКС становила $9,73 \pm 7,03$ року, яка співвідноситься з даними групи порівняння – $10,68 \pm 8,06$ ($p=0,620$) (**табл. 4.2**). Це можна пояснити тим, що ЦД 2-го типу часто з'являється вперше в гострий період COVID-19 або є одним із клінічних фенотипів ПКС.

Серед найбільш поширених протидіабетичних препаратів (ПДП), які призначали пацієнтам, були бігуаніди та похідні сульфонілсечовини (**табл. 4.2**).

Таблиця 4.2 - Загальна характеристика клінічних показників пацієнтів

Параметр	ПКС відсутній (n=22)	ПКС присутній (n=46)	p
Метформін, % (n)	72,7 (16)	71,7 (33)	0,932
Похідні сульфоніл сечовини, % (n)	22,7 (5)	32,6 (15)	0,403
Інгібітори ДПП-4, % (n)	4,5 (1)	2,2 (1)	0,588
Агоністи рецепторів ГПП-1, % (n)	4,5 (1)	2,2 (1)	0,588
Антагоністи НЗКТГ-2, % (n)	4,5 (1)	15,2 (7)	0,201
Інсулін людський, % (n)	9,1 (2)	10,9 (5)	0,821
Аналоги інсуліну, % (n)	27,3 (6)	21,7 (10)	0,615
Тільки дієта, % (n)	13,6 (3)	6,5 (3)	0,333
Монотерапія, % (n)	27,3 (6)	34,8 (16)	0,624
Комбінація ПДП, % (n)	31,8 (7)	37,0 (17)	0,678
Комбінація ПДП з інсуліном, % (n)	27,3 (6)	21,7 (10)	0,615
Діабетична нефропатія, % (n)	9,1 (2)	26,1 (12)	0,105
Діабетична периферична нейропатія, % (n)	68,2 (15)	67,4 (31)	0,948
Діабетична вегетативна нейропатія, % (n)	-	4,3 (2)	0,321
Діабетична ретинопатія, % (n)	22,7 (5)	30,4 (14)	0,508
Діабетична стопа, % (n)	13,6 (3)	8,7 (4)	0,531
Без ускладнень, % (n)	27,3 (6)	28,3 (13)	0,932
Інфаркт міокарда, % (n)	-	4,3 (2)	0,321
Інсульт, % (n)	9,1 (2)	6,5 (3)	0,704

Примітка: дані представлені n (кількісно) (%) у відсотках; ДПП-4 - дипептидилпептидази-4; НЗКТГ-2 - натрій-глюкозний котранспортер 2-го типу; ГПП-1 - глюкагоноподібний пептид-1; ПДП -протидіабетичні препарати; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

Понад 70 % пацієнтів обох груп отримували метформін ($p=0,932$). Ми не виявили суттєвих відмінностей у призначених ПДП між групами. Однак у 2 рази більший відсоток пацієнтів без ПКС отримували лікування інгібіторами ДПП-4 та агоністами ГПП-1 (4,5% проти 2,2% відповідно для обох ПДП; $p=0,588$) (**табл. 4.2**). Крім того, пацієнти без ПКС частіше отримували аналоги

інсуліну (27,3% проти 21,7%; $p=0,615$), а пацієнти з ПКС отримували похідні сульфонілсечовини (32,6% проти 22,7%; $p=0,403$) відповідно. Однак відмінності в лікуванні не були значущими при порівнянні між групами.

Профіль хронічних ускладнень ЦД 2-го типу представлений в **таблиці 4.2**. Вища частота хронічних ускладнень, окрім діабетичної стопи, була зафіксована у хворих на ПКС. Крім того, діабетична нефропатія майже в 3 рази частіше зустрічалася в групі ПКС порівняно з пацієнтами без ПКС (26,1% проти 9,1%; $p=0,105$). Цим можна пояснити більш часті призначення інгібіторів НЗКТГ 2-го типу у пацієнтів основної групи (4,5% проти 15,2%; $p=0,201$).

Таблиця 4.3 - Загальна характеристика лабораторних показників пацієнтів

Параметр	ПКС відсутній (n=22)	ПКС присутній (n=46)	p
HbA1c, %	7,83±1,26	8,75±1,55	0,019
Холестерин загальний, ммоль/л	5,81±1,69	5,58±1,62	0,603
Аполіпопротеїн В, г/л	0,95±0,31	0,95±0,35	0,983
Аполіпопротеїн А1, г/л	1,79±0,54	1,59±0,41	0,098
Вітамін D ₃ , нг/мл	21,89±12,67	17,74±8,39	0,113
СРБ високочутливий, мг/л	4,14±2,34	5,09±4,23	0,330
ІЛ-6, пг/мл	2,82±2,44	3,65±3,38	0,311

Примітка: дані представлені у вигляді $M \pm SD$

Аналіз основних лабораторних показників показав (**табл. 4.3**), що пацієнти з ПКС продемонстрували гірший глікемічний контроль та вищі рівні прозапальних біомаркерів. Наприклад, рівень HbA1c був статистично достовірно вищим у пацієнтів з ПКС (8,75±1,55%) порівняно з групою порівняння - 7,83±1,26%; ($p=0,019$). Крім того, в групі з ПКС продемонстровано дещо підвищені рівні високочутливого СРБ ($p=0,330$) та

ІІ-6 ($p=0,311$) та нижчий рівень вітаміну D₃ порівняно з пацієнтами без ПКС ($17,74 \pm 8,39$ проти $21,89 \pm 12,67$ нг/мл; $p=0,113$). Однак ці відмінності не були статистично значущими.

4.2. Анамнез учасників дослідження, пов'язаний з COVID-19

Аналіз пацієнтів показав, що понад 70 % пацієнтів без ПКС повідомили про легку тяжкість захворювання на COVID-19. У пацієнтів з ЦД 2-го типу та ПКС частіше діагностували середньої важкості та тяжку форму COVID-19 (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 - Характеристика перебігу COVID-19 у пацієнтів на ЦД 2-го типу

Параметр	ПКС відсутній (n=22)	ПКС присутній (n=46)	p
Без лікування, % (n)	22,7 (5)	13,0 (6)	0,310
Добавки/НПЗП, % (n)	77,3 (17)	87,0 (40)	0,310
Антибіотики, % (n)	40,9 (9)	54,3 (25)	0,300
O ₂ терапія, % (n)	9,1 (2)	28,3 (13)	0,074
Стероїди, % (n)	13,6 (3)	37,0 (17)	0,048
Штучна вентиляція легень, % (n)	4,5 (1)	4,3 (2)	0,970
Тяжкість перебігу COVID-19 (ВООЗ), % (n)			0,163
Легкий, % (n)	72,8 (16)	43,4 (20)	
Середньої тяжкості без госпіталізації, % (n)	13,6 (3)	28,3 (13)	
Середньої тяжкості з госпіталізацією, % (n)	9,1 (2)	17,4 (8)	
Важкий, % (n)	4,5 (1)	10,9 (5)	

Примітка: дані представлені n (кількісно) (%) у відсотках; НПЗП - нестероїдні протизапальні препарати; ВООЗ - Всесвітня організація охорони здоров'я; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

Загалом частота середньо-тяжких форм COVID-19 була у 2 рази вищою у групі пацієнтів з ПКС порівняно з пацієнтами без ПКС (56,6% проти 27,2%, $p=0,163$; табл. 4.4).

Також спостерігалася різниця в лікуванні активної інфекції COVID-19. Пацієнти з ПКС повідомляли про статистично значущо частіше призначення глюкокортикоїдів (37% проти 13,6%; $p=0,048$). Крім того, пацієнти з ПКС частіше отримували кисневу терапію (28,3% проти 9,1%; $p=0,074$). Вживання таких добавок, як цинк, вітамін D₃, НПЗП та/або антибіотиків були приблизно на одному рівні та суттєво не відрізнялися між групами.

4.3. Аналіз відносної довжини теломер у пацієнтів на ЦД 2-го типу

На відміну від біомаркерів сироватки крові, довжина теломер була тісно пов'язана з ПКС. Результати нашого дослідження показали значно нижчу відносну середню довжину теломер у пацієнтів з ПКС порівняно з тими, хто не мав ПКС ($1,1\pm0,2$ та $1,28\pm0,24$; $p=0,003$; Рис. 4.1.).

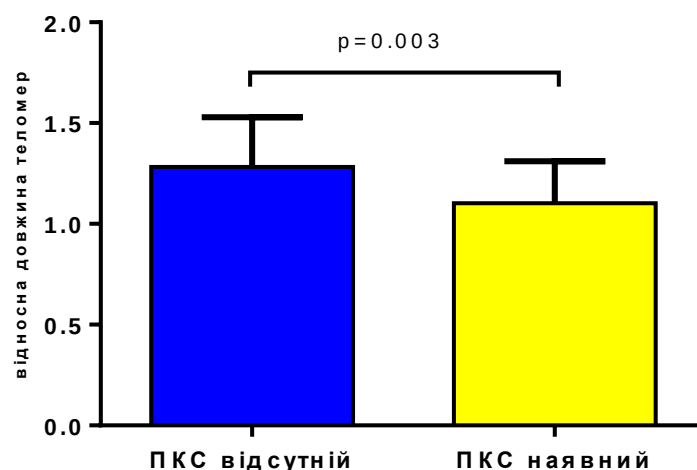


Рисунок 4.1 - Порівняння відносної довжини теломер в учасників дослідження. Столпчикова діаграма представляє $M\pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стюдента для незалежних вибірок.

Пацієнти основної групи були поділені за такими клінічними фенотипами ПКС: з домінуванням втоми ($n=13$), ментальних розладів ($n=10$), кардіо-респіраторної симптоматики ($n=12$) та метаболічним варіантом (погіршення хронічних ускладнень ЦД, вперше виявлений ЦД, лабільний перебіг з розвитком кетоацидозу) ($n=10$). Середня довжина теломер була найкоротшою у пацієнтів, які мали переважно кардіо-респіраторні симптоми – $1,05 \pm 0,23$. У хворих з переважанням втоми середня відносна довжина теломер в лейкоцитах становила $1,17 \pm 0,2$, при нейросенсорних і метаболічних розладах – $1,11 \pm 0,13$ і $1,07 \pm 0,22$ відповідно ($p=0,481$). Однак відносна довжина теломер суттєво не відрізнялася між підгрупами клінічного фенотипу (рис. 4.2).

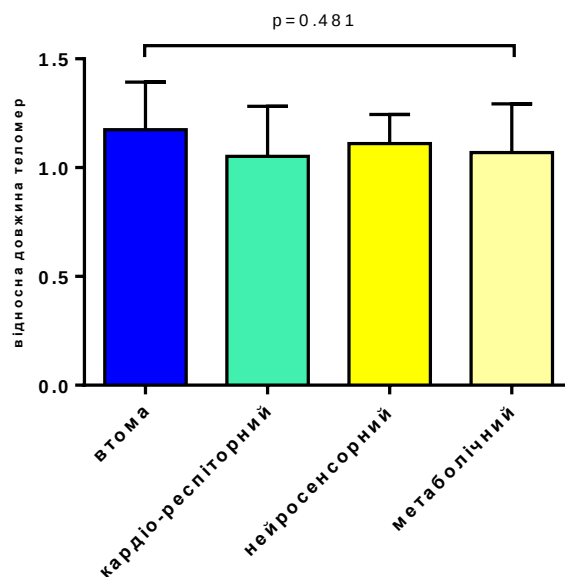


Рисунок 4.2 - Порівняння відносної довжини теломер в учасників дослідження в залежності від наявного клінічного фенотипу ПКС. Столпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використовувався однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA).

Гендерний аналіз продемонстрував меншу довжину теломер у жінок (рис. 4.3). Відносна довжина теломер у жінок з ПКС в анамнезі становила $1,09 \pm 0,23$ порівняно з чоловіками – $1,11 \pm 0,18$ ($p=0,714$). Без наявності в анамнезі ПКС відносна довжина теломер у лейкоцитах становила $1,22 \pm 0,17$ у

жінок та $1,33 \pm 0,29$ – у чоловіків ($p=0,321$). В обох групах гендерно- зумовлені зміни були незначними (рис. 4.3).

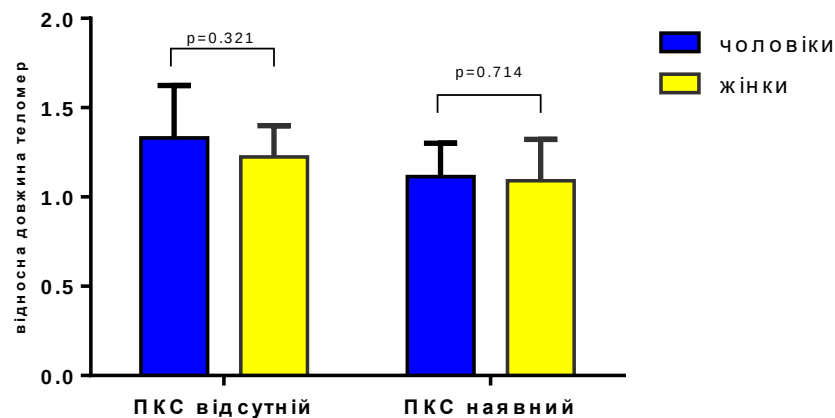


Рисунок 4.3 - Порівняння відносної довжини теломер в учасників дослідження в залежності від статті. Столпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стьюдента для незалежних вибірок.

В іншому суб-аналізі, ми порівняли відносну довжину теломер у пацієнтів з ЦД 2-го типу залежно від віку (рис. 4.4). Природно, що було виявлено вкорочення довжини теломер у пацієнтів старше 60 років в порівнянні з більш молодими пацієнтами. Проте лише в групі пацієнтів з ПКС різниця була статистично значущою ($1,05 \pm 0,19$ проти $1,17 \pm 0,21$; $p=0,050$).

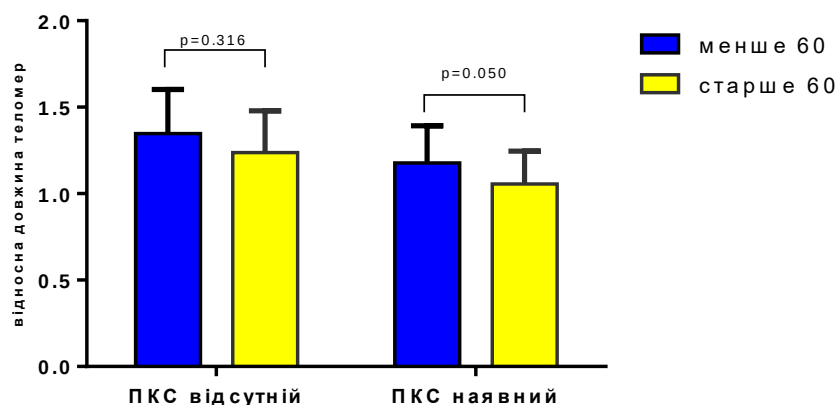


Рисунок 4.4 - Порівняння відносної довжини теломер в учасників дослідження в залежності від віку. Столпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стьюдента для незалежних вибірок.

Загалом наші результати вказують на важливість урахування статі та віку при дослідженні динаміки теломер та їх наслідків для патофізіології, прогнозу та індивідуальних терапевтичних стратегій ПКС.

4.4. Зв'язок між довжиною теломер і основними досліджуваними параметрами у пацієнтів на ЦД 2-го типу

Хоча статистично значущих відмінностей у показниках прозапальних біомаркерів сироватки крові між пацієнтами з ПКС та без ПКС не виявлено, ми виявили кореляційний зв'язок між укороченням теломер та рівнем СРБ та ІЛ-6 (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 - Кореляційний аналіз між відносною довжиною теломер та іншими параметрами у пацієнтів на ЦД 2-го типу

Параметр	Усі пацієнти (n=68)	ПКС відсутній (n=22)	ПКС присутній (n=46)
Вік, років	-0,275 (0,027) *	-0,376 (0,093)	-0,258 (0,091)
Тривалість ЦД2, років	0,006 (0,964)	-0,052 (0,822)	0,008 (0,957)
HbA1c, %	-0,252 (0,043) *	-0,149 (0,520)	-0,201 (0,192)
Вага, кг	-0,049 (0,697)	-0,026 (0,911)	-0,024 (0,879)
ІМТ, кг/м ²	-0,088 (0,485)	-0,195 (0,398)	-0,007 (0,966)
Окружність талії, см	-0,047 (0,712)	-0,131 (0,570)	0,034 (0,829)
Холестерин, ммоль/л	0,190 (0,129)	0,158 (0,494)	0,190 (0,218)
Аполіпопротеїн В, г/л	0,224 (0,073)	0,160 (0,487)	0,281 (0,064)
Аполіпопротеїн А1, г/л	0,050 (0,690)	-0,067 (0,773)	0,023 (0,884)
Вітамін D ₃ , нг/мл	0,042 (0,738)	-0,322 (0,155)	0,201 (0,190)
СРБ мг/л	-0,283 (0,022) *	0,005 (0,984)	-0,322 (0,033) *
ІЛ-6, пг/мл	-0,232 (0,063)	0,128 (0,581)	-0,318 (0,035) *

Примітка: дані представлені у вигляді r (p); ІМТ - індекс маси тіла; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

Одновимірний аналіз Пірсона виявив зворотну кореляцію між відносною довжиною теломер та прозапальними маркерами – ІЛ-6 ($r=-0,318$; $p=0,035$) та високочутливим СРБ ($r=-0,322$; $p=0,033$), лише в групі пацієнтів з ПКС. Крім того, у всіх пацієнтів з ЦД 2-го типу довжина теломер зворотньо корелювала з біологічним віком ($r=-0,275$; $p=0,027$) та HbA1c ($r=-0,252$; $p=0,043$).

В одновимірному логістичному регресійному аналізі менша довжина теломер була незалежним предиктором, пов'язаним з розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу (ВШ 0,026; 95% ДІ 0,002-0,354; $p=0,006$).

4.5. Діагностична точність довжини теломер як предиктора розвитку ПКС у пацієнтів на ЦД 2-го типу

З-поміж оцінених моделей машинного навчання найефективнішою виявилася GBM (Gradient Boosting Model – модель градієнтного бустингу), яка досягла AUROC - 0,753. Найменш ефективною моделлю в топ-10 була модель DRF з AUROC 0,672. Примітно, що список топ-10 складався з 7 моделей GBM, 1 – DRF, 1 – XRT і 1 – XGBoost, які демонстрували поступове зниження значень AUROC.

Для визначення ключових змінних, що впливають на результат, ми враховували ступінь значущості перестановки ознаки та значення SHAP. Найкраща модель визначила показник HbA1c і довжину теломер як найважливіші змінні, за ними йдуть: ІЛ-6, вітамін D₃, ОТ та інші. Щодо HbA1c, то очевидно, що більш низькі значення значно зменшують ймовірність розвитку ПКС. Люди з найдовшими теломерами мали нижчу ймовірність розвитку ПКС, водночас, пацієнти з дуже короткими теломерами мали вищий ризик розвитку ПКС (рис. 4.5, рис. 4.6).

Загалом було використано 59 ознак при побудові моделі, спрямованої на виявлення ПКС-позитивних пацієнтів. Аналіз охоплює загальний вплив кожної ознаки, зосереджуючись насамперед на 20, які проявляються найчастіше. Він не лише окреслює вплив цих ознак, але й наочно показує, як

цей вплив змінюється. Кожен рядок на рисунку відповідає певній ознаці, водночас, вісь x представляє значення SHAP. Кожна точка даних позначає вибірку, причому кольори, ближчі до червоного, вказують на вищі значення, а ті, що ближче до синього, вказують на нижчі значення. Наприклад, довжина теломер є критичною ознакою, яка демонструє негативну кореляцію з ПКС-статусом. Таким чином, більші значення довжини теломер відповідають меншій ймовірності ПКС.

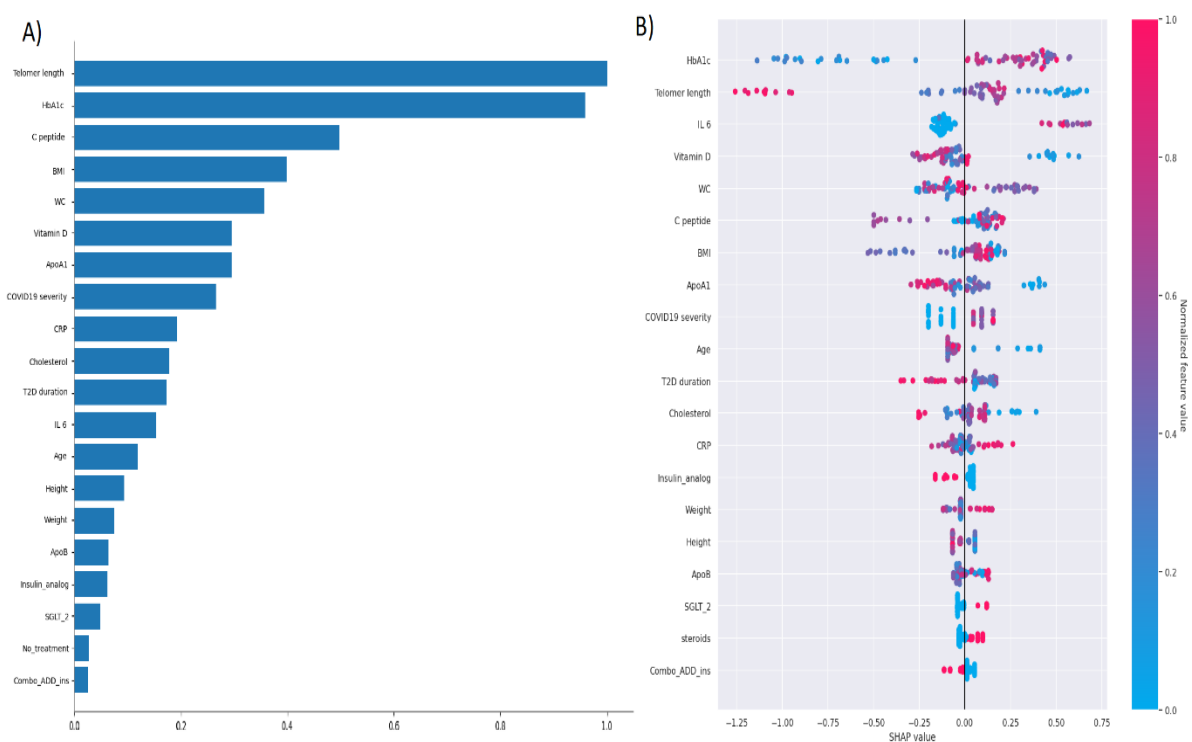


Рисунок 4.5 - На рисунку представлений ступінь значущості 20 ознак, отриманих за допомогою аналізу перестановок (А) і SHAP (Б) в рамках найбільш ефективної класифікаційної моделі.

На **рисунку 4.5А** показано ранжування перестановки ступеня значущості ознаки для прогнозування ПКС за головною моделлю. Довжина теломер і HbA1c виділяють як найбільш вагомі фактори в прогнозуванні ПКС. Їх ступінь значущості ще більше підкреслюють при вивченні важливості ознак

10 основних моделей, як показано на **рисунку 4.6**. У цьому аналізі ступінь значущості показника HbA1c і довжини теломер стає ще більш вираженою. І навпаки, вітамін D₃, ОТ та аполіпропротеїн (Аро А1) продемонстрували значно меншу ступінь значущості, водночас, решта змінних мали ще нижчий ступінь значущості.

На **рисунку 4.5 В** показані змінні, розташовані в порядку зменшення ступеня значущості, при цьому кожен пацієнт представлений точкою на кожній змінній лінії. Горизонтальне положення кожної точки вказує на те, чи пов'язаний вплив змінної з більшою чи меншою ймовірністю ПКС. Специфічні для змінних значення SHAP, що перевищують 0, свідчать про підвищений ризик ПКС.

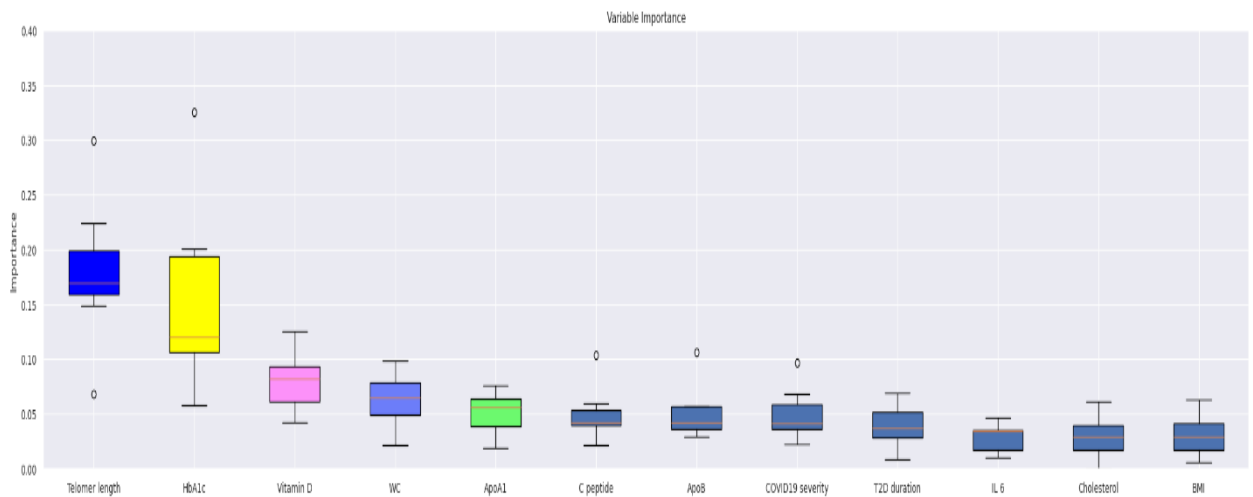


Рисунок 4.6 - Ступінь значущості перестановки основних ознак у 10 основних моделях для ідентифікації ПКС. Ступінь значущості перестановки кожної ознаки для кожної моделі було обчислено та відображено за допомогою стовпчикових діаграм.

Прозапальні молекули, такі як ІЛ-6 і високочутливий СРБ, а також вітамін D₃ можуть бути важливими маркерами тяжкості COVID-19, поганого прогнозу та розглядаються деякими авторами як можливі кандидати в

біомаркери асоційовані із розвитком ПКС. У нашому дослідженні ми перевірили їх точність паралельно з довжиною теломер (табл. 4.6).

Таблиця 4.6. Діагностична цінність довжини теломер, вітаміну D₃ та прозапальних маркерів для прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу

Параметр	AUROC	95% ДІ	p (AUROC)
Довжина теломер	0,691	0,561-0,820	0,004
Вітамін D ₃ , нг/мл	0,590	0,453-0,728	0,230
вч-СРБ, мг/л	0,533	0,391-0,674	0,665
ІЛ-6, пг/мл	0,564	0,422-0,705	0,398

З перевірених вище моделей статистично значуща AUROC спостерігалася лише для довжини теломер (табл. 4.6). З огляду на оптимальне порогове значення $\leq 1,02$, діагностичний метод досяг чутливості 39,1% і специфічності 95,5%. Загальна діагностична цінність склала 42,6%. AUROC для моделі становив 0,691 (95% ДІ 0,561-0,820; $p=0,004$) (рис. 4.7).

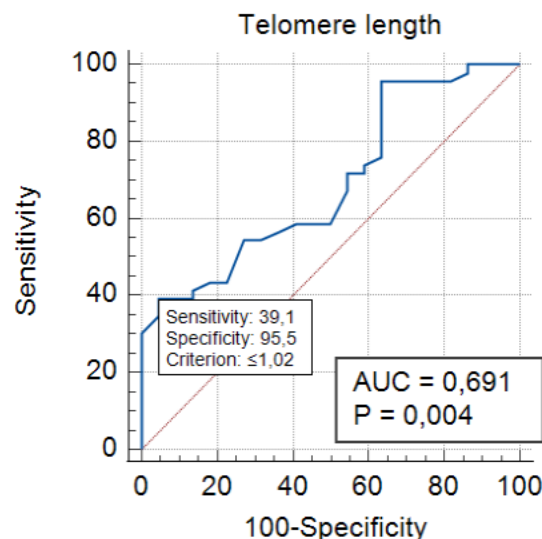


Рисунок 4.7 - ROC-крива для довжини теломер, при використанні в якості прогностичного показника для розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Резюме. У цьому перехресному дослідженні було задіяно 68 пацієнтів з ЦД 2-го типу після COVID-19. Пацієнти були розділені на 2 групи залежно від розвитку ПКС: група ПКС (n=46) та пацієнти, у яких не розвинувся ПКС (n=22) протягом 6 місяців після інфікування COVID-19. Для визначення відносної довжини теломер використовувався стандартизований метод, запропонований Sawthon et al. Ми розробили ряд моделей для прогнозування ПКС. Моделі пройшли випробування з використанням підходу перехресної валідації, а також була проведена внутрішня валідація.

Ми спостерігали статистично значуще нижчу середню довжину теломер у пацієнтів з ЦД 2-го типу з ПКС порівняно з тими, хто не мав ПКС ($1,1 \pm 0,2$ та $1,28 \pm 0,24$; $p=0,003$). У субаналізі коротші теломери спостерігалися у жінок та пацієнтів старшого віку в обох групах. Середня довжина теломер достовірно не відрізнялася між клінічними фенотипами ПКС ($p=0,481$). Найкращою моделлю, створеною для прогнозування ПКС, була GBM (AUROC=0,753). Найвпливовіші змінні перших 10 моделей складають: довжина теломер, показники HbA1c, вітаміну D₃, ОТ, аполіпропротеїн A1, вч-СРБ, аполіпропротеїн В (АpoB), тяжкість перебігу COVID-19, тривалість ЦД 2-го типу, ІЛ-6, загальний холестерин, ІМТ та вік. Довжина теломер і HbA1c демонструють значно більший вплив порівняно з іншими параметрами.

Укорочення довжини теломер прискорює біологічне старіння і разом з підвищенням HbA1c збільшує ризик розвитку ПКС. Таким чином було визначено, що довжина теломер та HbA1c значною мірою пов'язані з розвитком ПКС в осіб з ЦД 2-го типу, що свідчить про потенціал показників довжини теломер як прогностичних біомаркерів.

Матеріали по розділу опубліковані в наступних публікаціях:

1. Yerokhovych V, Matviichuk A, Ilkiv E, Krasnenkov D, Korcheva V, Falalyeyeva T, Botsun P, Sulaieva O, Komisarenko I, Kobylak N (2024) Long COVID is associated with accelerated aging in type 2 diabetes patients. 11th ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES) Meeting, Sep 6-8, 2024, Helsinki, Finland, Endocrine Abstracts, 102: 64, <https://doi.org/10.1530/endoabs.102.64>.

РОЗДІЛ 5

РОЛЬ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДНК ЛЕЙКОЦИТІВ У ПРОГНОЗУВАННІ РОЗВИТКУ ПОСТКОВІДНОГО СИНДРОМУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

5.1. Загальна характеристика учасників дослідження

Пандемія COVID-19 серйозно вплинула на здоров'я та динаміку захворювання у пацієнтів з метаболічними порушеннями [14]. Вивчення наслідків COVID-19 у хворих на ЦД 2-го типу вимагає пояснення змін, пов'язаних з метаболічною дисфункцією та багатьма ускладненнями [20]. ПКС – це нова проблема зі здоров'ям, що виникає в людей, які одужують від інфекції COVID-19 протягом останніх 3-6 місяців. Він характеризується такими симптомами, як: втома, біль у м'язах, кашель, сонливість і головний біль [5, 159]. Регуляція життєво важливих клітинних процесів, включно з основним енергетичним метаболізмом і функцією мітохондрій, вразлива при ПКС на геномному рівні [160]. Вивчення маркерів тяжкості COVID-19 та оцінка прогнозу ПКС сприяли відкриттю молекулярних механізмів, відповідальних за його розвиток [159].

Мітохондрії беруть участь в окислювальному фосфорилуванні і окислювально- відновному гомеостазі. Вони можуть бути в «безклітинному» стані й перебувати в позаклітинних везикулах, а мітохондріальна ДНК (мтДНК) циркулює в позаклітинному просторі [115]. Вже було показано, що мітохондрії беруть участь у реплікації вірусу SARS- CoV-2, що впливає на цілісність мембран мітохондрій і призводить до активації прозапальних сигналів [116]. З іншого боку, SARS-CoV-2 може впливати на функцію мітохондрій, сприяючи прогресуванню патологічних станів [115]. Дані свідчать про те, що інфекція SARS-CoV-2 тісно пов'язана з ендотеліальною дисфункцією та мікротромбозом, спричиненими легеневою коагулопатією, запаленням, окислювальним (оксидативним) стресом, гіпоксією, змінами

функції мітохондрій та пошкодженням ДНК [161]. Крім того, пошкодження тромбоцитів і апоптоз клітин внаслідок низки процесів можуть бути пов'язані з мітохондріальною дисфункцією [162]. Інфламосома NLRP3 підвищує свою експресію внаслідок мітохондріальної дисфункції та стимулює виділення мітохондріальних активних форм кисню (mtROS) та циркулюючої вільної мтДНК (cf-mtDNA). Ці зміни призводять до надмірної реакції макрофагів, особливо у людей похилого віку [160], провокуючи каскад подій, викликаних запаленням, і важке пошкодження тканин.

При вивченні біологічного матеріалу з дихальних шляхів та крові пацієнтів з підтвердженою інфекцією SARS-CoV-2 виявлено значною мірою знижену експресію генів мтДНК у крові, але не у зразках дихальних шляхів. Пришвидшення гліколізу та, відповідно, збільшення експресії генів відповіді АФК (реактивні форми кисню), а також гліколітичних ферментів пов'язане з посиленою реплікацією SARS-CoV-2 [163]. Крім того, структурні білки NSP4 та ORF9b вірусу SARS-CoV-2 беруть участь у пошкодженні мітохондрій, що призводить до апоптозу клітин [164]. Ці події супроводжуються утворенням макропор зовнішньої мембрани та вивільненням везикул внутрішньої мембрани, що містять мтДНК [164].

Нещодавнє клінічне дослідження показало, що підвищений рівень мтДНК (cf-mtDNA) можна використовувати як маркер тяжкості COVID-19, пов'язаний з поганим прогнозом, несприятливими наслідками (госпіталізація, госпіталізація у відділення інтенсивної терапії, ШВЛ) та смертністю [107, 111, 165, 166]. Однак прогностичний потенціал і зв'язок з ПКС недостатньо вивчені та обмежені кількома повідомленнями, які демонструють вплив мтДНК на появу втоми та психічних розладів [112, 113].

У цьому розділі дисертаційного дослідження ми мали на меті оцінити взаємозв'язок між мтДНК, виділеною з лейкоцитів периферичної крові, та розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу з урахуванням клінічного фенотипу, статі та біологічного віку. Також оцінено можливість використання мтДНК в якості прогностичного біомаркери асоційованого з розвитком ПКС [159].

У дослідженні взяли участь 65 пацієнтів з ЦД 2-го типу, які мали COVID-19 в анамнезі. Пацієнти були поділені на дві групи: ті, хто не мав ПКС (група порівняння, n=21) та пацієнти з ПКС (основна група, n=44). Основні базові характеристики груп представлені в **Таблиці 5.1** [159].

Таблиця 5.1 - Загальна характеристика та антропометричні показники пацієнтів

Параметр	ПКС відсутній (n=21)	ПКС присутній (n=44)	p
Вік, років	62,00±9,69	61,86±11,32	0,962
Тривалість ЦД2, років	10,66±8,26	9,72±7,19	0,641
Вага, кг	86,14±12,24	88,84±16,32	0,504
Індекс маси тіла, кг/м ²	29,57±4,71	30,77±5,89	0,417
Окружність талії, см	97,47±12,41	99,93±12,98	0,472

Примітка: дані представлені у вигляді $M \pm SD$ або n (кількісно) (%) у відсотках; ПКС - постковідний синдром.

Середній вік хворих був 62,09±9,69 та 61,86±11,32 року у групах відповідно (p=0,962). Усі пацієнти хворіли на ЦД 2-го типу в середньому протягом 10 років (група порівняння – 10,66±8,26 року; основна група – 9,72±7,19 року; p=0,641). Статистично значущих відмінностей у ІМТ хворих на ПКС (30,77±5,89 кг/м²) порівняно з групою порівняння (29,57±4,71 кг/м²; p=0,417) не виявлено. Також групи не відрізнялись по показнику ОТ (p=0,472; **табл. 5.1**) [159].

Загальна характеристика клінічних показників, особливості терапії та профіль хронічних ускладнень ЦД пацієнтів наведена в **Таблиці 5.2**. Статистично значущих відмінностей між групами по даним параметрам виявлено не було.

Слід зазначити, більша кількість серцево-ниркових порушень спостерігалася в групі ПКС, що призвело до більш частого призначення

інгібіторів НЗКТГ 2-го типу пацієнтам з ПКС – 15,9%, що було втричі частіше, ніж пацієнтам з групи порівняння, яким призначали цей ПДП лише у 4,8% випадків. Проте ці відмінності були статистично не значущими ($p=0,201$) (табл. 5.2) [159].

Таблиця 5.2 – Особливості терапії та профілю хронічних ускладнень

Параметр	ПКС відсутній (n=21)	ПКС присутній (n=44)	p
Метформін, % (n)	81,0 (17)	70,5 (31)	0,368
Похідні сульфоніл сечовини, % (n)	28,6 (6)	31,8 (14)	0,791
Інгібітори ДПП-4, % (n)	4,8 (1)	2,3 (1)	0,587
Агоністи рецепторів ГПП-1, % (n)	4,8 (1)	2,3 (1)	0,587
Антагоністи НЗКТГ-2, % (n)	4,8 (1)	15,9 (7)	0,201
Інсулін людський, % (n)	9,5 (2)	11,4 (5)	0,823
Аналоги інсуліну, % (n)	28,6 (6)	20,5 (9)	0,468
Тільки дієта, % (n)	4,8 (1)	6,8 (3)	0,543
Діабетична нефропатія, % (n)	9,5 (2)	25,0 (11)	0,145
Діабетична периферична нейропатія,%(n)	66,7 (14)	65,9 (29)	0,952
Діабетична вегетативна нейропатія,% (n)	-	4,5 (2)	0,321
Діабетична ретинопатія, % (n)	23,8 (5)	31,8 (14)	0,507
Діабетична стопа, % (n)	14,3 (3)	9,1 (4)	0,527
Без ускладнень, % (n)	28,6 (6)	29,5 (13)	0,936
Інфаркт міокарда, % (n)	-	4,5 (2)	0,321
Інсульт, % (n)	9,5 (2)	6,8 (3)	0,702

Примітка: дані представлені n (кількісно) (%) у відсотках; ДДП-4 - дипептидилпептидази-4; НЗКТГ-2 - натрій-глюкозний котранспортер 2-го типу; ГПП-1 - глюкагоноподібний пептид-1; ПДП -протидіабетичні препарати; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

Згідно з лабораторними даними, понад 70% пацієнтів обох груп мали дефіцит вітаміну D₃ (25ОН). У групі ПКС спостерігалася тенденція до зниження середнього рівня вітаміну D₃ (17,49±7,94 проти 22,24±12,87 нг/мл відповідно), хоча ці відмінності не були значущими (p=0,072) [159].

Таблиця 5.3 - Загальна характеристика лабораторних показників пацієнтів

Параметр	ПКС відсутній (n=21)	ПКС присутній (n=44)	p
НbA1c, %	7,86±1,28	8,70±1,52	0,033
Холестерин загальний, ммоль/л	5,88±1,70	5,65±1,61	0,599
Аполіпопротеїн В, г/л	0,95±0,32	0,97±0,35	0,855
Аполіпопротеїн А1, г/л	1,79±0,55	1,59±0,42	0,114
Вітамін D ₃ , нг/мл	22,24±12,87	17,49±7,94	0,072
С-реактивний білок високочутливий, мг/л	3,90±2,11	5,22±4,28	0,188
Інтерлейкін-6 (IL-6), пг/мл	2,74±2,47	3,72±3,43	0,249

Примітка: дані представлені у вигляді M±SD

Однак рівень НbA1c був значно вищим у основній групі (8,70±1,52%), ніж у групі порівняння (7,86±1,28%; p=0,033) (табл. 5.3) Ці дані вказують на зв'язок між глікемічним контролем ЦД 2-го типу та ПКС. Інші лабораторні показники статистично значимо не відрізнялися між групами [159].

5.2. Анамнез учасників дослідження, пов'язаний з COVID-19

Рівень прозапального цитокіну ІЛ-6 та вч-СРБ статистично значуще не відрізнявся між основною та групою порівняння, проте вищі значення даних параметрів спостерігалися у пацієнтів із ПКС (3,72±3,43 проти 2,74±2,47 пг/мл (p=0,249) та 5,22±4,28 проти 3,90±2,11 мг/л (p=0,188) відповідно (табл. 5.3) [159].

За класифікацією ВООЗ інфекцію COVID-19 класифікували як легку, середню або важку. Основні характеристики хворих на COVID-19 представлені в **Таблиці 5.4**.

Таблиця 5.4 - Перебіг COVID-19 та особливості лікування

Параметр	ПКС відсутній (n=21)	ПКС присутній (n=44)	p
Без лікування, % (n)	23,8 (5)	13,6 (6)	0,306
Добавки/НПЗП, % (n)	76,2 (16)	86,4 (38)	0,306
Антибіотики, % (n)	42,9 (9)	54,5 (24)	0,378
O ₂ терапія, % (n)	9,5 (2)	27,3 (12)	0,104
Стероїди, % (n)	14,3 (3)	36,4 (16)	0,067
Штучна вентиляція легень, % (n)	4,8 (1)	4,5 (2)	0,969
Тяжкість перебігу COVID-19 (ВООЗ), % (n)			0,271
Легкий, % (n)	71,4 (15)	45,5 (20)	
Середньої тяжкості без госпіталізації, % (n)	14,3 (3)	27,3 (12)	
Середньої тяжкості з госпіталізацією, % (n)	9,5 (2)	15,9 (7)	
Важкий, % (n)	4,8 (1)	11,3 (5)	

Примітка: дані представлені n (кількісно) (%) у відсотках; НПЗП - нестероїдні протизапальні препарати; ВООЗ - Всесвітня організація охорони здоров'я; ПКС - пост-COVID-19 синдром.

У нашому дослідженні пацієнти, які страждали від ПКС, мали більш важкий перебіг COVID-19, хоча ці відмінності були статистично не значущими. В загальному, перебіг інфекції COVID-19 від середнього до важкого ступеня був у 2 рази частішим у групі ПКС, ніж у групі без ПКС (54,5% проти 28,6%, $p=0,271$; **табл. 5.4**). Загалом 27,3% пацієнтів потребували кисневої підтримки, а 36,4% пацієнтів отримували глюкокортикоїди в період

гострого COVID-19, тоді як 9,2% ($p=0,104$) та 14,3% ($p=0,067$) пацієнтів групи без ПКС відповідно потребували кисневої підтримки та терапії стероїдами. Застосування таких добавок, як цинк, вітамін D3, НПЗП та/або антибіотики, було приблизно однаковим і суттєво не відрізнялося між групами (табл.5.4) [159].

5.3. Аналіз рівня мтДНК у пацієнтів на ЦД 2-го типу

Наші результати показали, що кількість мтДНК була значно нижчою в групі ПКС, ніж у групі порівняння ($1,26 \pm 0,25$ проти $1,44 \pm 0,24$ відповідно; $p=0,011$; рис. 5.1) [159].

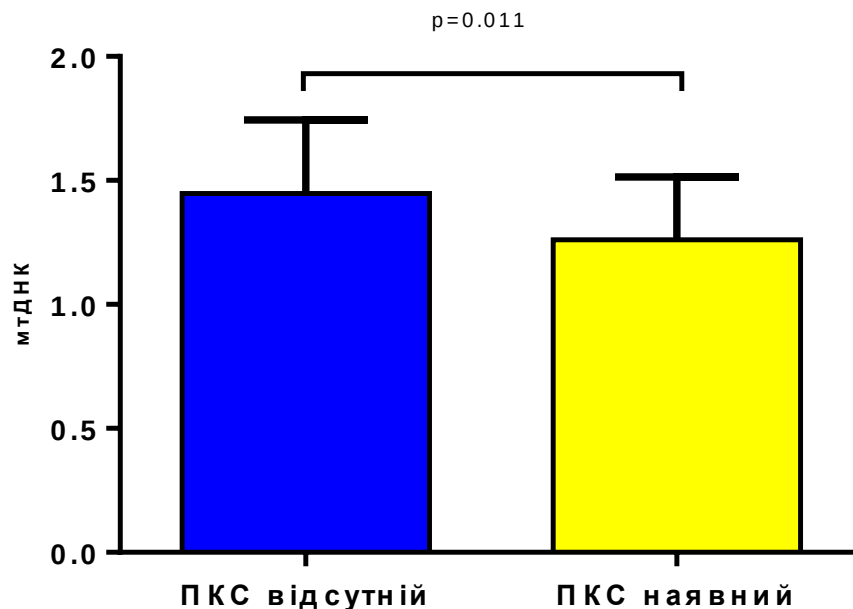


Рисунок 5.1 - Порівняння середньої кількості мтДНК в учасників дослідження. Столпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стюдента для незалежних вибірок.

При використанні однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) встановлено, що вміст мтДНК статистично значуще не відрізнявся між підгрупами клінічного фенотипу ПКС ($p=0,572$; рис.5.2). Найнижчий рівень мтДНК ($1,19 \pm 0,22$) виявлено у хворих з домінуванням кардіо-респіраторної

симптоматики. Середня кількість мтДНК мала тенденцію до збільшення в таких підгрупах з відповідними домінуючими симптомами: нейросенсорні ($n=9$; $1,20 \pm 0,29$), втома ($n=13$; $1,30 \pm 0,24$) та метаболічні ($n=11$; $1,31 \pm 0,25$) розлади (рис. 5.2) [159].

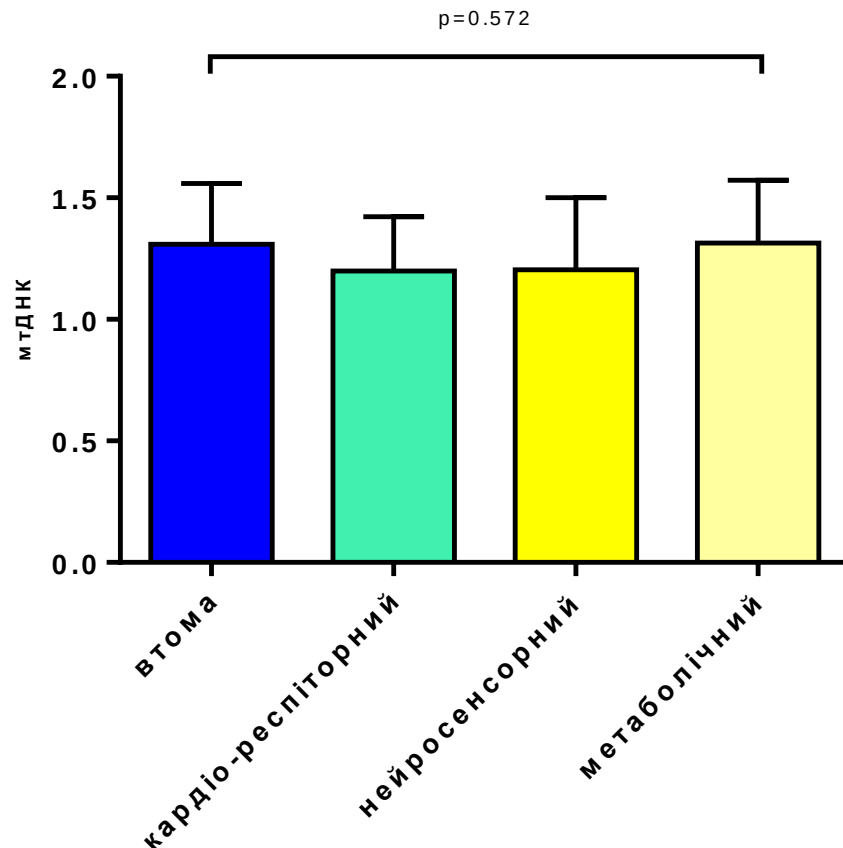


Рисунок 5.2 - Порівняння середньої кількості мтДНК в учасників дослідження в залежності від наявного клінічного фенотипу ПКС. Стовпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використовувався однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA).

За даними гендерно-обумовленого субаналізу, вміст мтДНК був більшим у жінок, ніж у чоловіків ($1,52 \pm 0,24$ проти $1,37 \pm 0,33$; $p=0,282$) серед пацієнтів без ПКС (рис. 5.3). У групі ПКС вміст мтДНК також статистично значуще не відрізнявся між статями і був практично ідентичним ($1,25 \pm 0,22$ проти $1,26 \pm 0,28$, $p=0,961$) [159].

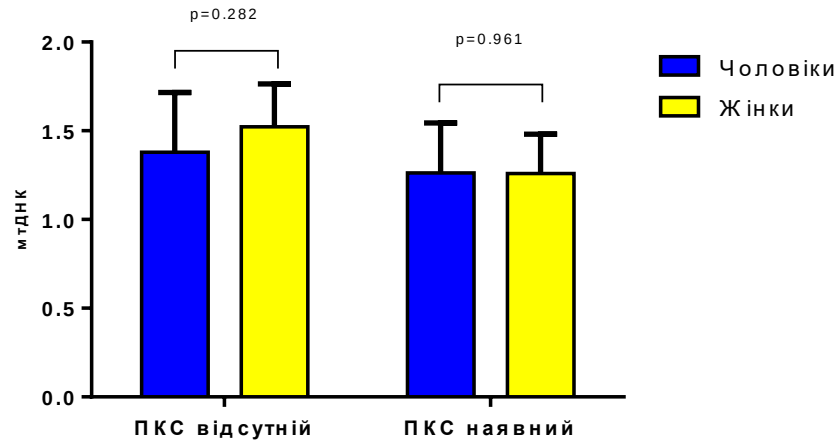


Рисунок 5.3 - Порівняння середньої кількості мтДНК в учасників дослідження в залежності від статі. Стовпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стюдента для незалежних вибірок.

При порівняльному віковому аналізі ми не виявили відмінностей у рівнях мтДНК серед пацієнтів молодше та старше 60 років ($p=0,612$). Примітно, що в групі ПКС пацієнти старше 60 років мали нижчий вміст мтДНК у лейкоцитах, однак різниця не була суттєвою ($1,20 \pm 0,23$ проти $1,34 \pm 0,26$; $p=0,083$) (рис. 5.4) [159].

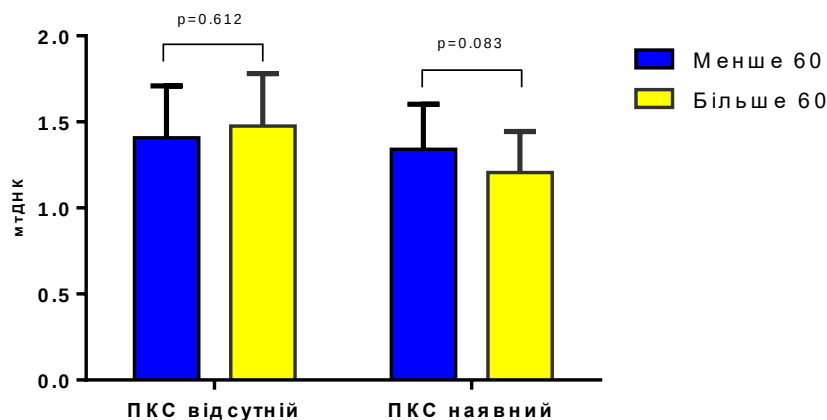


Рисунок 5.4 - Порівняння середньої кількості мтДНК в учасників дослідження в залежності від віку. Стовпчикова діаграма представляє $M \pm SD$. Для порівняння використано t-тест Стюдента для незалежних вибірок.

5.4. Виявлення потенційних біомаркерів ПКС

Результати одновимірного кореляційного аналізу представлені в таблиці 5.5 та рисунку 5.5.

Таблиця 5.5 - Кореляційний аналіз між рівнем мтДНК та іншими параметрами

Параметр	Усі пацієнти (n=65)	ПКС відсутній (n=21)	ПКС присутній (n=44)
Вік, років	-0,192 (0,126)	-0,044 (0,849)	-0,282 (0,064)
Тривалість ЦД 2-го типу, років	-0,052 (0,682)	0,233 (0,309)	-0,267 (0,080)
HbA1c, %	-0,072 (0,568)	0,382 (0,088)	-0,159 (0,303)
Вага, кг	0,147 (0,243)	-0,171 (0,460)	0,333 (0,027)*
ІМТ, кг/м ²	0,150 (0,233)	-0,028 (0,903)	0,293 (0,053)
Окружність талії, см	0,233 (0,062)	0,267 (0,242)	0,283 (0,062)
Холестерин загальний, ммоль/л	0,143 (0,254)	-0,040 (0,862)	0,228 (0,137)
Аполіпопротеїн В, г/л	0,232 (0,063)	0,013 (0,954)	0,373 (0,013)*
Аполіпопротеїн А1, г/л	-0,023 (0,856)	-0,083 (0,720)	-0,097 (0,531)
Вітамін D ₃ , нг/мл	-0,009 (0,941)	-0,171 (0,458)	-0,013 (0,935)
вч-СРБ мг/л	0,025 (0,844)	0,349 (0,121)	0,016 (0,916)
Інтерлейкін-6 (ІЛ-6), пг/мл	-0,244 (0,049)*	-0,343 (0,128)	-0,166 (0,280)
Метформін, % (n)	0,100 (0,415)	-0,009 (0,967)	0,116 (0,441)
Похідні сульфонілсечовини, % (n)	0,015 (0,901)	0,322 (0,144)	-0,152 (0,313)
Інгібітори ДПП-4, % (n)	-0,231 (0,058)	0,293 (0,186)	-0,242 (0,106)
Агоністи рецепторів ГПП-1, % (n)	-0,124 (0,313)	-0,138 (0,541)	-0,112 (0,457)
Антагоністи НЗКТГ-2, % (n)	-0,110 (0,370)	0,224 (0,317)	-0,173 (0,249)
Інсулін людський, % (n)	-0,158 (0,199)	-0,150 (0,506)	-0,174 (0,248)
Аналоги інсуліну, % (n)	0,098 (0,426)	0,048 (0,831)	0,129 (0,393)
Добавки/НПЗП, % (n)	0,045 (0,717)	0,001 (0,987)	0,109 (0,469)
Антибіотики, % (n)	0,118 (0,336)	0,562 (0,007)*	0,072 (0,633)
О ₂ терапія, % (n)	0,263 (0,030)*	0,486 (0,022)*	0,317 (0,032)*
Стероїди, % (n)	0,183 (0,136)	0,397 (0,067)	0,232 (0,120)
Штучна вентиляція легень, % (n)	0,186 (0,129)	0,361 (0,098)	-0,141 (0,351)

Дані представлені у г (p).

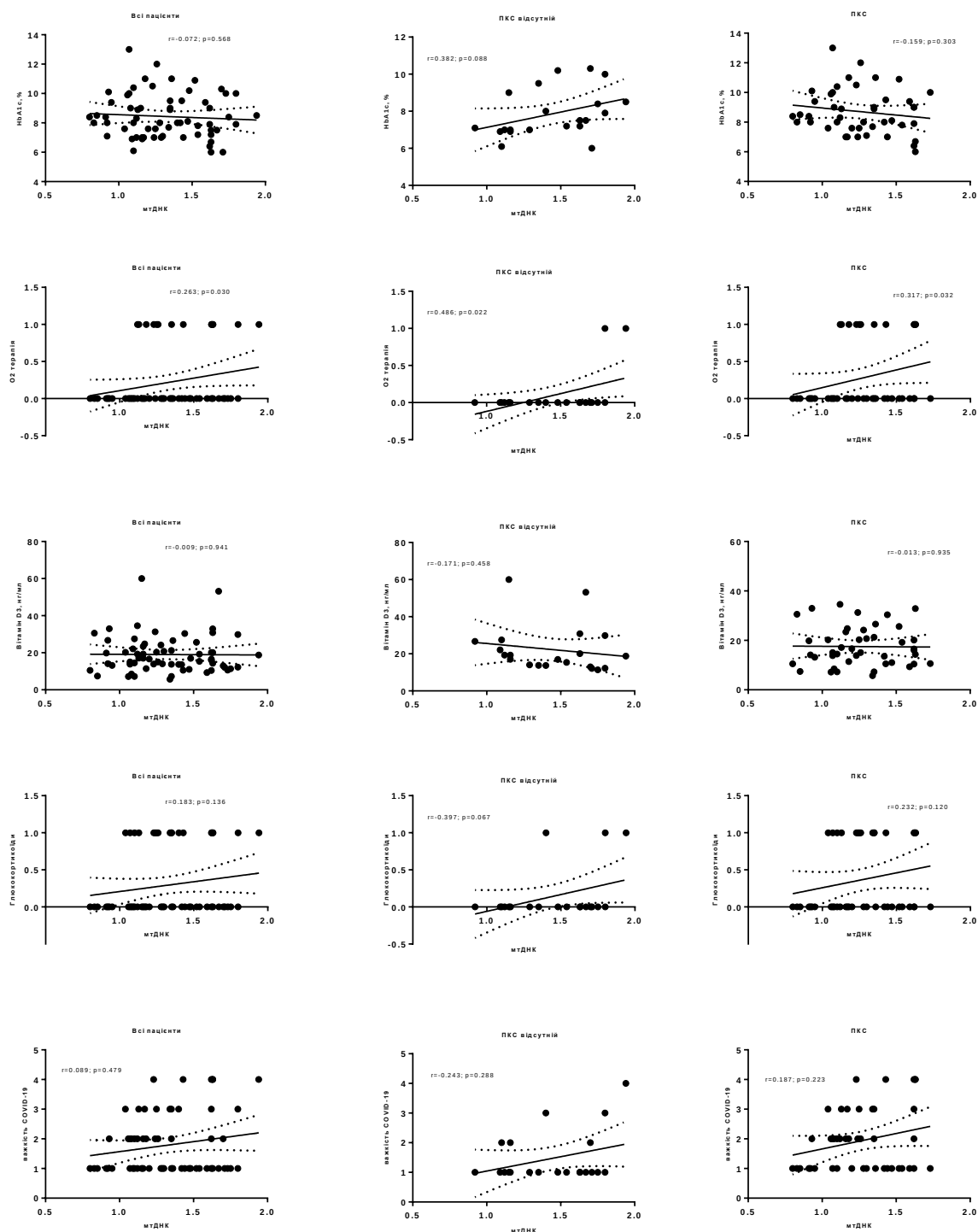


Рисунок 5.5 – Кореляційний аналіз між середньою кількістю мтДНК та змінними, які включені в регресійні моделі.

У пацієнтів з ПКС спостерігали слабкий позитивний кореляційний зв'язок між рівнем мтДНК та масою ($r=0,333$; $p=0,027$) і аполіпропротеїном В ($r=0,373$; $p=0,013$). Крім того, рівень мтДНК корелював з використанням

кисневої терапії під час інфекції SARS-CoV-2, особливо у пацієнтів без ПКС ($r=0,486$; $p=0,022$). У групі порівняння виявлено пряму кореляцію середньої сили між мтДНК та вживанням антибіотиків ($r=0,562$; $p=0,007$). В аналізі усіх пацієнтів кількість мтДНК негативно корелювала з ІЛ-6 ($r=-0,244$; $p=0,049$) та лікуванням інгібіторами ДПП-4 ($r=-0,231$; $p=0,058$) (табл. 5.5) [159].

Одновимірний логістичний регресійний аналіз показав, що мтДНК є незалежним предиктором, асоційованим з розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу (ВШ 0,077; 95% ДІ 0,010-0,612; $p=0,015$) [159].

Прозапальні молекули, такі як ІЛ-6 і вч-СРБ, а також вітамін D₃, можуть бути важливими маркерами тяжкості COVID-19 і поганого прогнозу розвитку хвороби, а також можуть впливати на розвиток ПКС. У нашому дослідженні ми перевірили точність цих біомаркерів у комплексі з вмістом мтДНК (табл. 5.6) [159].

Таблиця 5.6 - Діагностична цінність вмісту мтДНК, вітаміну D₃ та прозапальних маркерів для прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу

Параметр	AUROC	95% ДІ	p (AUROC)
Вміст мтДНК	0,687	0,541-0,832	0,012
Вітамін D ₃ , нг/мл	0,600	0,458-0,741	0,197
Вч-СРБ, мг/л	0,568	0,426-0,709	0,381
ІЛ-6, пг/мл	0,586	0,443-0,729	0,265

AUROC, площа під кривою ROC; 95% ДІ, 95% довірчий інтервал.

З вище перелічених кандидатів в біомаркери статистично значуща AUROC спостерігалася лише для мтДНК – 0,687 (95% ДІ 0,541-0,832; $p=0,012$) (рис. 5.6). Рівень мтДНК, нижчий за граничне значення $\leq 1,62$, був визначений як діагностичний маркер ПКС, що демонструє високу чутливість (93,2%) та помірну специфічність (42,9%), з негативним (NPV) - 75% та відповідно

позитивним прогностичним значенням (PPV) – 77,3%. Загальна діагностична цінність моделі склала – 76,9% [159].

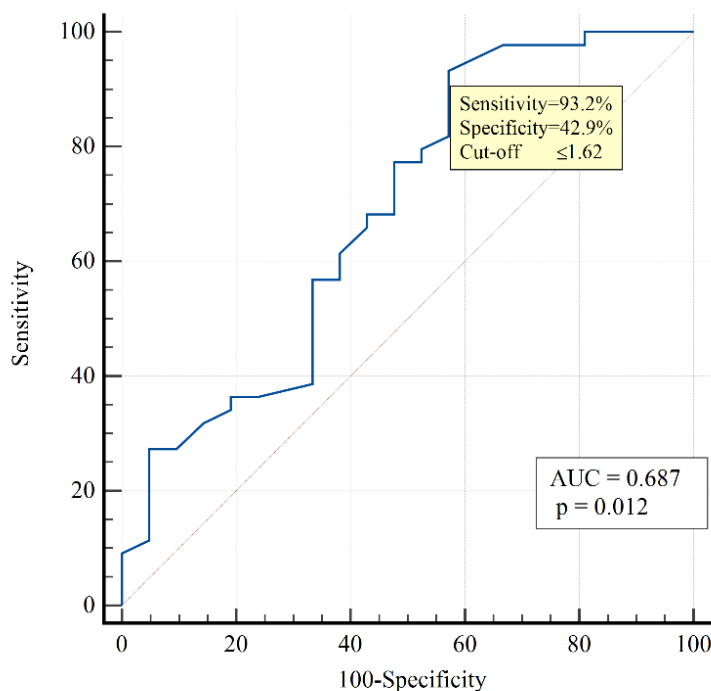


Рисунок 5.6 - ROC-крива для рівня мтДНК, при використанні в якості прогностичного показника асоційованого з розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Для визначення ролі різних факторів у розвитку ПКС після COVID-19 у хворих на ЦД 2-го типу застосовано покроковий багатовимірний логістичний регресійний аналіз (табл. 5.7). В результаті було побудовано чотири різні моделі. Модель 1 (Нейджелкерк $R^2 = 0,331$) і модель 2 (Нейджелкерк $R^2 = 0,334$) виявили три основні фактори, які незалежно пов'язані з розвитком ПКС, а саме, низький рівень мтДНК і високий HbA1c, у поєднанні з терапією глюкокортикоїдами чи O_2 в гострій фазі інфекції SARS-CoV-2. У моделі 3 тяжкість COVID-19 була анамнестичною змінною, яка в поєднанні з мтДНК та HbA1c дозволяє прогнозувати розвиток ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу (Нейджелкерк $R^2 = 0,335$) (табл. 5.7) [159].

Таблиця 5.7 - Багатофакторний логістичний регресійний аналіз для прогнозування розвитку ПКС

Моделі	Коефіцієнт регресії $\pm$ SE	ВШ (95% ДІ)	p
Модель 1 (Нейджелкерк $R^2 = 0,331$) Константа вміст мДНК HbA1c стероїдна терапія	0,453 $\pm$ 2,319 -3,371 $\pm$ 1,210 0,537 $\pm$ 0,251 1,913 $\pm$ 0,844	0,034 (0,003-0,368) 1,711 (1,047-2,796) 6,774 (1,295-35,426)	0,005 0,032 0,023
Модель 2 (Нейджелкерк $R^2 = 0,334$) Константа вміст мДНК HbA1c O ₂ терапія	0,915 $\pm$ 2,335 -3,687 $\pm$ 1,299 0,543 $\pm$ 0,258 2,279 $\pm$ 1,016	0,025 (0,002-0,319) 1,722 (1,039-2,854) 9,764 (1,334-71,452)	0,005 0,035 0,025
Модель 3 (Нейджелкерк $R^2 = 0,335$) Константа вміст мДНК HbA1c Тяжкість перебігу COVID-19	-0,837 $\pm$ 2,415 -3,369 $\pm$ 1,215 0,580 $\pm$ 0,259 0,805 $\pm$ 0,337	0,034 (0,003-0,372) 1,786 (1,076-2,954) 2,237 (1,156-4,329)	0,006 0,025 0,017
Модель 4 (Нейджелкерк $R^2 = 0,316$) Константа вміст мДНК O ₂ терапія Вітамін D ₃	6,598 $\pm$ 1,982 -3,648 $\pm$ 1,238 2,145 $\pm$ 0,973 -0,066 $\pm$ 0,036	0,026 (0,002-0,295) 8,543 (1,26-57,574) 0,937 (0,873-1,004)	0,003 0,028 0,066

У моделі 4 киснева підтримка в гострій фазі COVID-19, поточний дефіцит вітаміну D₃ та низький рівень мДНК були пов'язані з ПКС (Nagelkerke $R^2=0,316$) (табл. 5.7) [159].

5.5. Прогностичне моделювання розвитку ПКС за допомогою машинного навчання

Топ-10 моделей містили 7 моделей GBM, 1 модель XRT і 2 моделі XGBoost, демонструючи поступове зниження значень AUROC. З-поміж протестованих моделей найефективнішою виявилася GBM, яка досягла AUROC - 0,811. Найменш ефективною моделлю в топ-10 був ще один варіант GBM з іншими гіперпараметрами, з AUROC - 0,738 [159].

Через невеликий обсяг нашого набору даних створення узагальненої моделі для прогнозування ПКС здавалося неможливим. Однак набір даних є цінним для визначення ключових змінних, які вимагають подальшого вивчення в майбутніх дослідженнях. З цією метою ми використовували перестановку значущості ознак та значення SHAP для нашого аналізу [159].

Перестановка значущості ознак оцінює вплив окремих ознак на продуктивність моделі шляхом вимірювання зниження точності при випадковому перемішуванні значень конкретної ознаки. Це порушення взаємозв'язку «ознака-ціль» показує залежність моделі від кожної ознаки. Ця техніка не залежить від моделі і може бути застосована багаторазово з різними перестановками, надаючи надійне розуміння важливості ознак. Значення SHAP визначають значущість кожної ознаки, аналізуючи передбачення моделі, як враховуючи, так і не враховуючи ознаку для кожного спостереження для наданих даних. Ця техніка дає глибоке уявлення про роль, яку відіграє кожна ознака в прогнозах моделі [159].

Ієрархія важливості ознак для прогнозування ПКС згідно провідної моделі зображена на **рисунку 5.7**. Загалом було використано 59 ознак для розробки моделі для виявлення факторів, пов'язаних із ПКС.

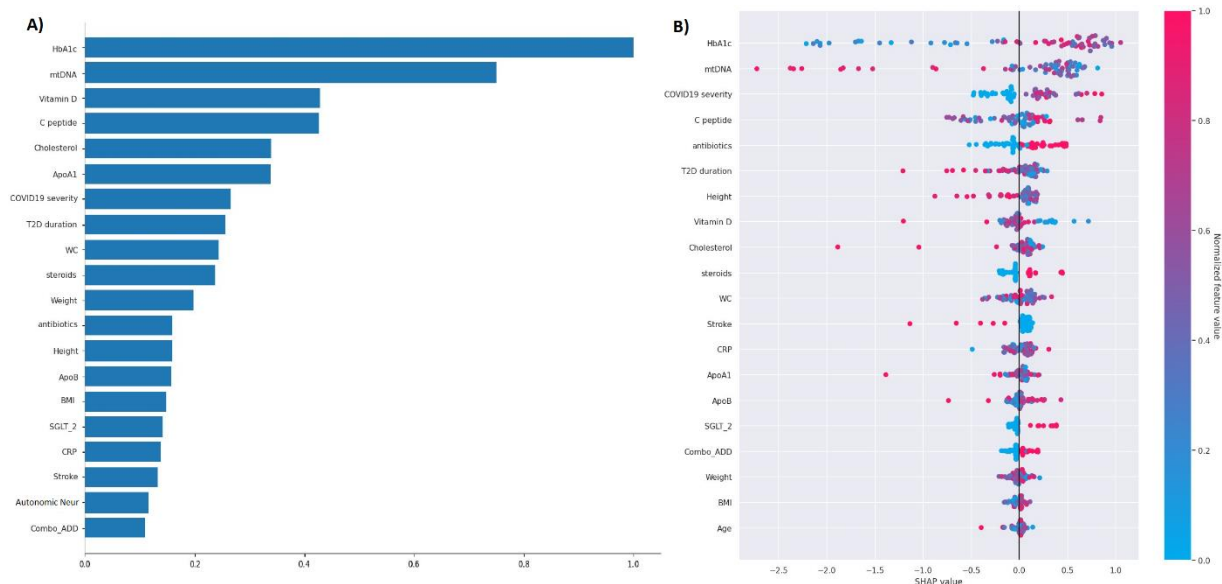


Рисунок 5.7 - На рисунку представлений ступінь значущості 20 ознак, отриманих за допомогою аналізу перестановок (А) і SHAP (Б) в рамках найбільш ефективної класифікаційної моделі.

На **рисунку 5.7В** змінні відображено в порядку зменшення впливу, при цьому кожного пацієнта зображено точкою на відповідній змінній лінії. Положення точки вздовж горизонтальної осі показує, чи пов'язаний вплив змінної на більшу чи меншу ймовірність розвитку ПКС. Значення SHAP, окремі для кожної змінної, що перевищують 0, вказують на підвищений ризик розвитку ПКС. Кожен рядок на рисунку відповідає певній ознаці, а вісь X представляє значення SHAP. Кожна точка даних представляє вибірку, причому кольори, ближчі до червоного, вказують на вищі значення, а ті, що ближче до синього, вказують на нижчі значення [159].

Аналіз оцінює загальний вплив кожної ознаки, приділяючи особливу увагу 20 основним ознакам. Ця модель не лише окреслює значущість кожної ознаки, але й ілюструє, як ця значущість змінюється. Рівні HbA1c і мтДНК були основними факторами, пов'язаними з ПКС, особливо при розгляді значень змінних в топ-10 моделях, як показано на **рисунку 5.8** [159].

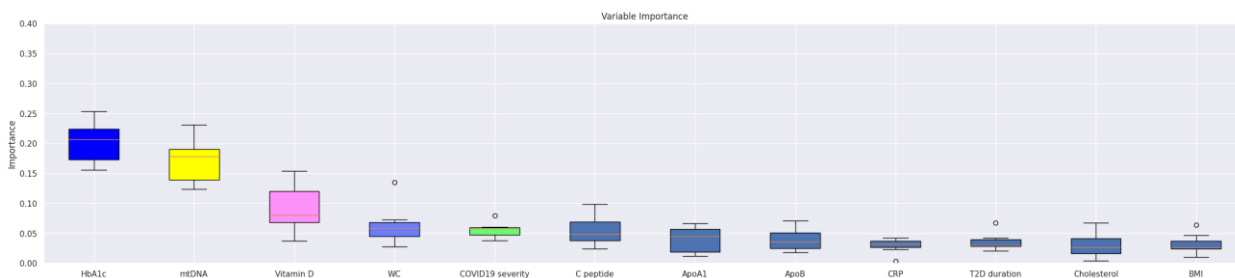


Рисунок 5.8 - Ступінь значущості перестановки основних ознак у 10 основних моделях для ідентифікації ПКС. Ступінь значущості перестановки кожної ознаки для кожної моделі було обчислено та відображено за допомогою стовпчикових діаграм.

Найефективніша модель визначила HbA1c і мтДНК як найбільш критичні фактори, за якими слідують тяжкість COVID-19, тривалість ЦД 2-го типу, рівень вітаміну D₃ та інші змінні. Нижчі рівні HbA1c були тісно пов'язані зі значним зменшенням ймовірності розвитку ПКС. Щодо мтДНК, пацієнти з вищим рівнем мтДНК продемонстрували меншу ймовірність розвитку ПКС, позаяк особи з мінімальним рівнем мтДНК стикалися з підвищеним ризиком [159].

Таким чином, мтДНК і HbA1c були визначені як ключові ознаки з контрастними асоціаціями з ПКС, при цьому рівень мтДНК показав зворотну кореляцію (вищий рівень – менш вірогідний розвиток ПКС), а рівень HbA1c продемонстрував пряму кореляцію з ПКС (нижчий рівень – менш вірогідний розвиток ПКС). Крім того, вищі значення мтДНК у поєднанні з нижчими рівнями HbA1c були пов'язані зі зменшенням ймовірності ПКС [159].

Резюме. Для визначення зв'язку між рівнями мітохондріальної ДНК (мтДНК) у лейкоцитах крові та розвитком ПКС у хворих на ЦД 2-го типу з урахуванням клінічного фенотипу, статі та біологічного віку було відібрано 65 хворих на ЦД 2-го типу. Пацієнти були розділені на 2 групи залежно від наявності ПКС: група ПКС (основна група; n=44) та пацієнти, у яких не розвивався ПКС (група порівняння; n=21) протягом 6 місяців після інфікування COVID-19. Для вимірювання вмісту мтДНК у лейкоцитах

периферичної крові використовували стандартизований метод полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (кількісна ПЛР, qPCR). Ми створили кілька моделей для прогнозування ПКС, випробувавши їх з використанням підходу перехресної валідації.

Встановлено значно нижчий вміст мтДНК у пацієнтів з ЦД 2-го типу з ПКС, ніж у пацієнтів без ПКС ($1,26 \pm 0,25$ проти $1,44 \pm 0,24$; $p=0,011$). У гендерно-обумовленому та віковому аналізі кількість мтДНК статистично значуще не відрізнялася між підгрупами. При порівняльній оцінці клінічних фенотипів ПКС достовірної різниці у вмісті мтДНК не виявлено ($p=0,572$). За даними покрокового багатовимірного логістичного регресійного аналізу, низький вміст мтДНК асоційований з розвитком ПКС, незалежно від кисневої, глюкокортикоїдної терапії та тяжкості COVID-19. Найефективнішою моделлю для прогнозування ПКС була GBM з AUROC - 0,811. HbA1c і мтДНК мали помітно більший вплив, ніж інші змінні. Ця модель ефективно виявляла пацієнтів з більшим ризиком розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

Таким чином, у цьому розділі було виявлено, що HbA1c та мтДНК значною мірою пов'язані з розвитком ПКС в осіб з ЦД 2-го типу, що вказує на потенціал HbA1c та мтДНК як прогностичних біомаркерів.

Матеріали по розділу опубліковані в наступних публікаціях:

1. Matviichuk A, Yerokhovych V, Ilkiv Y, Krasnienkov D, Korcheva V, Gurbych O, Shcherbakova A, Botsun P, Falalyeyeva T, Sulaieva O, Kobylia N (2024) HbA1c and leukocyte mtDNA levels as major factors associated with post-COVID-19 syndrome in type 2 diabetes patients. Sci Rep, 14, 25533, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77496-2>

2. Ilkiv E, Matviichuk A, Yerokhovych V, Krasnenkov D, Korcheva V, Falalyeyeva T, Botsun P, Sulaieva O, Komisarenko I, Kobylia N (2024) Low mitochondrial DNA is associated with post-COVID-19 syndrome in patients with type 2 diabetes. 11th ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES) Meeting,

Sep 6-8, 2024, Helsinki, Finland, Endocrine Abstracts, 102: 66,
<https://doi.org/10.1530/endoabs.102.66>.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Незважаючи на те, що високий ІМТ та ЦД були визнані факторами ризику розвитку важкого перебігу COVID-19 та ПКС, досі немає чітко сформульованих предикторів розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу, що обмежує профілактичні заходи для покращення результатів лікування пацієнтів та якості життя [167]. Це дослідження виявило ключові фактори ризику, пов'язані з ризиком розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу.

Застосовуючи різні типи логістичного регресійного аналізу та ймовірнісні моделі нейронної мережі, ми визначили фактори ризику, такі як: жіноча стать, тяжкість перебігу COVID-19 та, відповідно, застосування штучної вентиляції легень, вперше діагностований діабет під час COVID-19, HbA1c вище 9,2%, а також інфаркт міокарда або інсульт в анамнезі, як ключові фактори ризику для прогнозування ПКС у людей із ЦД 2-го типу. Різні дослідження прогнозу ПКС також виявили прогностичну роль різних факторів. Незважаючи на варіативність результатів, здатність основних факторів, включно з жіночою статтю та тяжкістю COVID-19, передбачати ПКС була підкреслена в різних дослідженнях.

Maglietta et al. у систематичному огляді продемонстрували роль жіночої статі та тяжкості перебігу гострого етапу захворювання [168]. Lemhöfer et al. повідомили, що жіноча стать, вже існуючі порушення згортання крові та ішемічна хвороба серця були пов'язані з більш високою частотою ПКС [169]. Аналогічним чином, у багатофакторному аналізі Zemni et al. показали, що жіноча стать, вже існуючі супутні захворювання, тривалість гострого захворювання COVID-19, госпіталізація, кількість епізодів COVID-19 та вакцинація проти SARS-CoV-2 є важливими для визначення ризику розвитку ПКС [170]. Ці дані, отримані в результаті популяційного аналізу в цілому, узгоджуються з нашими висновками, що підтверджують роль статі та тяжкості COVID-19. У першому підрозділі

дисертаційного дослідження, у якому брали участь виключно пацієнти з ЦД 2-го типу, додаткові фактори, включно з тяжкістю ЦД 2-го типу та лікуванням інсуліном, виявилися важливими для оцінки ймовірності розвитку ПКС.

Діабет пов'язаний з високим ризиком несприятливих наслідків інфекції COVID-19 і ПКС [167]. З іншого боку, поточне дослідження не підтвердило, що наявність ЦД 2-го типу була фактором ризику для довгострокових симптомів ПКС [171]. Згідно з отриманими результатами, пацієнти з ЦД 2-го типу та без нього, які одужали від COVID-19 за 7,2 (SD 0,6) місяців після виписки зі стаціонару, мали однакові показники наявності симптомів ПКС (1,06, 95% ДІ 0,92-1,24; $p=0,372$) [171]. Тому слід досліджувати додаткові фактори, що впливають на наслідки інфекції COVID-19.

Ще однією проблемою, яку активно обговорюють, є оцінка використання різних ПДП перед госпіталізацією щодо несприятливих наслідків COVID-19, смертності, а також розвитку та тяжкості ПКС. Нещодавні дослідження показали, що попереднє лікування метформіном, агоністами ГПП-1 та ІНЗКТГ-2 було пов'язане з нижчим рівнем смертності, основними несприятливими наслідками та госпіталізацією у пацієнтів з COVID-19 та ЦД 2-го типу [172, 173].

Використання інгібіторів ДПП-4 було пов'язане зі статистично значущим збільшенням ризику госпіталізації у відділення інтенсивної терапії [172] та смертності [173]. Лікування інсуліном є фактором ризику госпіталізації та підвищення смертності [173, 174]. Впливу застосування похідних сульфонілсечовини, тіазолідиндіону та альфа-глюкозидази на смертність немає [173]. На противагу цьому, поточне дослідження не виявило значного зв'язку між використанням ПДП у домашніх умовах та смертністю або небажаними наслідками у пацієнтів з ЦД 2-го типу, госпіталізованих з приводу COVID-19.

Нещодавні дані щодо зв'язку між поширеними методами лікування ЦД 2-го типу та розвитком ПКС є недостатніми та обмежуються кількома

повідомленнями про протекторні ефекти метформіну [175–177]. Наприклад, нещодавнє багатоцентрове, рандомізоване, паралельне дослідження фази 3 продемонструвало, що амбулаторне лікування метформіном знижує частоту розвитку ПКС приблизно на 41% [178]. У нашому дослідженні ми помітили, що аналоги інсуліну значно підвищують ризик розвитку ПКС. На противагу цьому, використання людського інсуліну мало захисний ефект. Інші типи ПДП були нейтральними.

Тісний зв'язок між ЦД 2-го типу та COVID-19 прослідковують від початку пандемії [179–181]. Було показано, що діабет в анамнезі у пацієнтів з гострою інфекцією SARS-CoV-2 погіршує всі наслідки захворювання та збільшує смертність [182]. Хоча дихальна система є основною мішенню SARS-CoV-2, вірус може вражати багато інших органів і клітин, включно з ендотелієм, кардіоміоцитами, імунними клітинами та β -клітини підшлункової залози. Фактично, ЦД та інфекція SARS-CoV-2 мають дві важливі спільні риси – активацію запального процесу та поліорганне залучення до патологічних процесів [183, 184]. Це може обернутися проявами різних важких патологій, зокрема, гострої серцево-судинної недостатності, розладів травної системи, неврологічні ускладнення та порушення обміну речовин.

Тяжкий перебіг COVID-19 і неефективний контроль рівня глюкози посилюють розвиток ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу. Однак між COVID-19 і ЦД 2-го типу, існує двонаправлена взаємодія [179], що створює порочне коло, яке сприяє розвитку ускладнень [185].

Варто зауважити, що тісний взаємозв'язок між імунітетом та ендокринною системою впливає на функціональність імунних клітин та відповідь організму на віруси. Наприклад, інсулін може безпосередньо регулювати імунні клітини, включаючи Т-лімфоцити, які відповідають за противірусний імунітет [186]. CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітини мають рецептори інсуліну, які беруть участь у полегшенні засвоєння глюкози і сприянні гліколітичного метаболізму під час активації Т-клітин [187]. Більш того,

гостре зниження рівня інсуліну погіршує реакцію CD8⁺ на інфекцію, позаяк ін'єкція базального інсуліну збільшує противірусний потенціал цих клітин [188]. Гіперглікемія безпосередньо підриває ключову функцію імунних клітин [189]. Високий рівень глюкози в крові пов'язаний з порушенням цитотоксичності CD8⁺ і NK-клітин, а також з аномальним виробництвом цитокінів CD4⁺ Т-клітинами у пацієнтів з ЦД 2-го типу після інфекції [190]. Крім того, було показано, що HbA1c прямо корелює з перебігом інфекцій, викликаних різними патогенами, впливаючи як на тривалість захворювання, так і на тяжкість [186]. Цей механізм може бути пов'язаний зі стимулюючим впливом гіперглікемії на реплікацію ряду патогенів [189], що перешкоджає здатності імунної системи боротися з інфекційними агентами. Таким чином, наші результати показали, що поганий глікемічний контроль або використання аналогів інсуліну замість людського інсуліну підвищують ризик розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу після COVID-19.

Також виявлено, що інфаркт міокарда або інсульт в анамнезі може значно підвищити ризик розвитку ПКС. Цей висновок узгоджується з попередніми висновками, що демонструють вплив ішемічної хвороби серця на збільшення частоти ПКС. Подібним чином було також показано, що супутні серцево-судинні та цереброваскулярні захворювання підвищують ймовірність розвитку ПКС [191]. Інфаркт міокарду та інсульт мають спільні механізми в своєму патогенезі, засновані на порушенні регуляції системи згортання крові, ендотеліальній дисфункції, системному хронічному запаленні й оксидативному стресі [192].

Важливо зауважити, що більшість цих патофізіологічних процесів корелюють з теоріями про механізми, що лежать в основі розвитку ПКС. На додаток до персистуючих вірусних резервуарів і тривалого запалення з аутоімунними складниками, в патогенезі ПКС було підкреслено дисфункцію ендотелію і відповідні зміни згортання крові [193, 194]. Примітно, що ендотеліальна дисфункція, запалення та згортання крові тісно пов'язані з інфарктом міокарда та інсультом. Ці механізми також є

ключовими в прогресуванні діабету та розвитку ускладнень. Таким чином, пацієнти, які перенесли інфаркт міокарда та інсульт, мають високий ризик розвитку ПКС, і їх слід розглянути для профілактики ускладнень ПКС. Таким чином, пацієнти, які перенесли важку форму COVID-19, особливо ті, хто перебуває на штучній вентиляції легень, піддаються більшому ризику тривалого ПКС, що може вплинути як на їхнє фізичне та психічне здоров'я.

Також, ми виявили, що пацієнти з ЦД 2-го типу, який проявляється під час COVID-19, також схильні до ризику розвитку ПКС. Цей висновок стосується нещодавніх наукових дискусій щодо нового специфічного типу діабету як метаболічного прояву ПКС [69, 138, 140]. У відповідь на патогенні мікроорганізми, включаючи SARS-CoV-2 або грип А, можуть бути змінені як імунні клітини, так і метаболічні процеси [195]. Існує багато окремих свідчень того, що пацієнти з вперше діагностованим ЦД 2-го типу нещодавно зіткнулися з інфекцією. Інфекція була визнана причиною підвищеної ІР багато десятиліть тому [186]. Хоча популяційні дослідження впливу вірусної інфекції на розвиток ЦД 2-го типу тривають, існують переконливі докази щодо впливу запалення на ІР через передачу сигналів прозапальних цитокінів. Підвищені рівні ФНП-а, ІЛ-1 β , ІФН- γ та ІЛ-6 знижують чутливість до інсуліну, провокуючи ІР та додатково впливаючи на метаболізм, запалення, мікроциркуляцію та систему згортання крові [186, 188, 196].

Таким чином, зміни в обміні речовин під час вірусної інфекції можуть бути пусковим механізмом для стійкого зниження регуляції рівня глюкози в крові. Згідно з нашими даними, нововиявлений ЦД 2-го типу, що проявився під час або невдовзі після гострого COVID-19, підвищує ризик розвитку ПКС, і відповідні пацієнти потребують додаткових заходів для профілактики ПКС.

Результати дисертаційного дослідження описані в наступному розділі, а саме в розділі 4, продемонстрували тісний зв'язок між довжиною теломер та розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу. Отримані нами результати узгоджуються з результатами попередніх досліджень. Кілька досліджень,

проведених під час пандемії COVID-19, також продемонстрували зв'язок між коротшими теломерами та вищою смертністю [197]. Також описано зворотню кореляцію між відносною довжиною теломер та тяжкістю COVID-19, при цьому вкорочення теломер прискорює біологічне старіння та виснаження теломер після інфекції SARS-CoV-2 [90, 198, 199]. При оцінці регресійної моделі, ЦД 2-го типу був найбільшою мірою пов'язаний з довжиною теломер серед багатьох інших захворювань. У цьому ж дослідженні вкорочення довжини теломер було названо біомаркером тяжкості інфекції COVID-19 [200]. Згідно з рандомізаційним аналізом Менделя (Mendelian randomization, MR), коротша довжина теломер була пов'язана з вищим ризиком несприятливих наслідків COVID-19, незалежно від інших факторів ризику, включаючи вік [201]. Інші дослідження не показали такого причинно-наслідкового зв'язку [202, 203]. Відомо, що пацієнти з коротшими теломерами мають менше шансів на виживання після COVID-19 [204]. Стійкі рентгенологічні аномалії легень спостерігалися у пацієнтів з меншою вихідною довжиною теломер [205]. Прискорене старіння може призвести до підвищення чутливості до інфекції SARS-CoV-2 та важкого перебігу COVID-19 [206].

Загалом, нещодавні дані свідчать про те, що довжину теломер можна використовувати як біомаркер, пов'язаний із тяжкістю COVID-19, несприятливими наслідками (госпіталізація, потреба в інтенсивній терапії, респіраторна підтримка) та смертністю. Однак існують лише обмежені дані щодо впливу довжини теломер на розвиток ПКС. У цьому дослідженні ми оцінили важливість довжини теломер як змінної, пов'язаної з ПКС, і оцінили її зв'язок з клінічним фенотипом ПКС, статтю та біологічним віком. Також було перевірено релевантність довжини теломер як прогностичного біомаркера розвитку ПКС.

Отримані результати показали значне вкорочення довжини теломер у пацієнтів з ПКС. Це дозволяє констатувати факт прискореного біологічного старіння у людей з ПКС. Так само, значне вкорочення довжини теломер

спостерігалось у пацієнтів з ПКС порівняно з людьми, які не хворіли на COVID-19 ($p < 0,0001$) [95]. На противагу цьому, інші автори виявили, що менша довжина теломер пов'язана з госпіталізацією через COVID-19, але не зі стійкими проявами ПКС [205].

Все більше доказів свідчать про те, що ПКС частіше зустрічається серед жінок, людей похилого віку та тих, хто має супутні захворювання та вищий ІМТ [207]. Ми спостерігали меншу довжину теломер у жінок і пацієнтів старше 60 років в обох групах. Попередні звіти також показали прискорене біологічне старіння та виснаження теломер після інфекції SARS-CoV-2 [198, 199]. Крім того, відносна довжина теломер була значно меншою у жінок репродуктивного віку з COVID-19, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$) [208], менша відносна довжина теломер також пов'язана з вищим ризиком смертності внаслідок COVID-19 [209].

ПКС проявляється одним або кількома симптомами: втома, задишка, біль у грудях та суглобах, когнітивна дисфункція тощо. Останні дані щодо довжини теломер у пацієнтів з ПКС обмежуються кількома дослідженнями, які демонструють її вкорочення переважно внаслідок ураження легенів. Вкорочення теломер у пацієнтів з ПКС було пов'язане з більш високим ризиком розвитку та прогресування легеневого фіброзу, хронічного обструктивного захворювання легень і раку легень [210].

Результати когортного дослідження COVID-FIBROTIC показали вплив SARS-CoV-2 на стирання теломери лейкоцитів периферичної крові у пацієнтів через 12 місяців після інфікування та перенесеної двосторонньої пневмонії, а також наявність фіброзних змін у легеневій тканині. Зокрема, у 94,74% пацієнтів було виявлено коротші теломери порівняно з контрольною групою, що відповідала віку та статі, через рік після госпіталізації [211]. Більш детально вивчено довжину теломер в альвеолярних клітинах II типу (АІІ), що виявило, що їх вкорочення пов'язане з тривалим легеневим фіброзом у хворих на ПКС [158]. Ідентифіковано ген *RTEL1*, який кодує геліказу, що регулює збільшення довжини теломер. Ультрарідкісний варіант

цього гена розглядають як маркер еволюційних фіброзних змін в легенях у фазі ПКС [212]. У нашому дослідженні ми були першими, хто спробував проаналізувати довжину теломер з точки зору різних проявів ПКС. Найменша довжина теломер була у пацієнтів з кардіо-респіраторними симптомами порівняно з втомою/болем, психічними та метаболічними розладами.

Є дані, що вкорочення довжини теломер у пацієнтів, які одужали від COVID-19, може свідчити про те, що інфекція SARS-CoV-2 може спричинити вкорочення теломер у клітинах крові, особливо в лейкоцитах [208]. З клінічної точки зору, вс-СРБ та запальні цитокіни, такі як ІЛ-6, можуть бути важливими маркерами тяжкості COVID-19 та розвитку ПКС. Ми спостерігали помірну негативну кореляцію між відносною довжиною теломер та обома прозапальними маркерами. Раніше також була описана негативна кореляція з СРБ, співвідношенням нейтрофілів до лімфоцитів і довжиною теломер у пацієнтів з COVID-19 [90]. З іншого боку, гальмування процесу вкорочення теломер може розглядатися як потенційна мета при лікуванні COVID-19 та наслідків ПКС. З цією метою слід розглянути різні стратегії для ефективної боротьби з цим захворюванням у довгостроковій перспективі. У зв'язку з цим роль ряду ферментів, що беруть участь в регуляції довжини теломер, останнім часом привертає велику увагу [213, 214]. Ймовірно, здоровий спосіб життя, регулярна фізична активність та здорове харчування сприятимуть подовженню теломер, кращому перебігу окислювально-відновних процесів, нижчому рівню запалення та здатності мати стійку резистентність до самого COVID-19 та довгострокових наслідків, таких як ПКС [215].

У той час як попередні дослідження встановили прогностичну цінність HbA1c у пацієнтів з ЦД 2-го типу для оцінки тяжкості COVID-19, наше дослідження є одним з перших, яке підкреслює важливість рівнів HbA1c до COVID-19 у прогнозуванні ПКС [216]. Крім того, HbA1c разом із довжиною теломер був визначений як один із найсильніших маркерів біологічного віку,

що ще більше підтверджує ідею про те, що прискорене біологічне старіння може бути важливим фактором у розвитку ПКС [217].

З огляду на скромний розмір нашого набору даних, побудова узагальненої моделі для прогнозування ПКС здавалася нездійсненною. Однак наш набір даних може служити цінним ресурсом для визначення ключових змінних, що вимагають подальшого вивчення в майбутніх дослідженнях. З цією метою ми використовували ступінь значущості перестановки та значення SHAP для проведення такого аналізу. Ступінь значущості ознаки кількісно оцінює вплив окремих ознак на продуктивність моделі, вимірюючи зниження оцінки моделі при довільній зміні значення певної ознаки. Порушуючи взаємозв'язок між ознакою та об'єктом, цей метод показує, якою мірою модель покладається на кожну ознаку. Важливо, що ця техніка не залежить від типу моделі і може бути застосована багаторазово з різними перестановками ознаки, пропонуючи надійне розуміння важливості цієї ознаки. Значення SHAP визначають важливість ознаки, оцінюючи прогностичність моделі з ознакою та без неї для кожного спостереження в межах закладеної бази даних.

Підсумовуючи, ми представляємо дослідження «випадок-контроль», яке показало, що менша довжина теломер і рівень HbA1c пов'язані з ПКС і можуть бути досліджені як прогностичний фактор. Одним з основних обмежень нашого дослідження є невеликий розмір вибірки, який, тим не менш, дозволив підтвердити зв'язок між довжиною теломер і ПКС. Майбутні дослідження на цю тему повинні охоплювати більше пацієнтів і аналізувати шляхи «підтримки» теломер, які можуть впливати на їх довжину, а також на рівень HbA1c. Крім того, перехресна методологія дослідження видається додатковим обмеженням. Необхідні подальші проспективні когортні дослідження з кількома часовими точками для оцінки довжини теломер з урахуванням результатів лікування пацієнтів, наявності ЦД та перебігу ПКС.

В наступному розділі 5 дисертаційного дослідження ми мали на меті оцінити взаємозв'язок між показником мтДНК, виділеної з лейкоцитів

периферичної крові, та розвитком ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу. Результати нашого дослідження виявили нижчий рівень мтДНК у лейкоцитах хворих на ЦД 2-го типу, ніж у групі порівняння. Ці дані розкривають важливу роль мітохондріальної дисфункції у пацієнтів з ЦД 2-го типу після COVID-19 у розвитку небезпечного для здоров'я довгострокового ПКС. Добре відомо, що мітохондрії беруть участь у реплікації SARS-CoV-2, який утворює двомембранні везикули і не може бути розпізнаним захисною системою клітин. Ці везикули пошкоджують цілісність мембрани мітохондрій, вивільняючи мтДНК у кровообіг і запускаючи активацію вродженої імунної системи хазяїна, що може посилити прозапальний стан [116].

Результати досліджень, проведених під час пандемії, проілюстрували зв'язок між підвищеним рівнем циркулюючої вільної мтДНК та тяжкістю COVID-19 і несприятливим прогнозом. Наприклад, рівень циркулюючої вільної мтДНК був у вісім разів вищим у зразках пацієнтів, госпіталізованих до відділення інтенсивної терапії через COVID-19, ніж у здорових [107].

Нещодавні дослідження продемонстрували, що рівень циркулюючої вільної мтДНК був значно підвищеним у пацієнтів з COVID-19, а похибка на вік, стать та супутні захворювання була пов'язана з поганими наслідками (смерть, потреба в госпіталізації у відділення інтенсивної терапії, інтубація, використання вазопресорів або замісна ниркова терапія) [110, 111]. Крім того, показники рівня циркулюючої вільної мтДНК продемонстрували відмінну прогностичну ефективність щодо внутрішньої лікарняної смертності у пацієнтів з COVID-19 (AUROC 0,90; 95% ДІ 0,75-0,90) [166]. На противагу цьому, Shoraka et al. повідомили, що рівень циркулюючої вільної мтДНК був значно нижчим у пацієнтів з симптомами COVID-19, ніж у пацієнтів без симптомів [218].

Щодо участі мтДНК у розвитку ПКС, наукові дані обмежені кількома повідомленнями, що показують значне оксидативне пошкодження мтДНК

у пацієнтів із втомою [112] та у тих, хто відчуває мозкове затуманення (brain fog) зі зниженою концентрацією білків, що беруть участь у відновленні ДНК та підтримці якості мітохондрій під час оксидативного стресу [113]. Наші дані також узгоджуються з результатами нещодавнього дослідження [114], яке виявило нижчі концентрації мт-ДНК в мононуклеарних клітинах периферичної крові у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19, ніж у пацієнтів з легким ($p=0,005$) або помірним ($p=0,011$) COVID-19 [114]. Крім того, рівні мтДНК були значно нижчими у пацієнтів з летальними наслідками, ніж у тих, хто вижив [114]. Таким чином, зниження мтДНК в лейкоцитах пов'язане з поганим прогнозом у хворих на COVID-19 і розвитком віддалених наслідків.

Низький рівень мтДНК у лейкоцитах може відображати пошкодження мітохондрій, спричинене запаленням та оксидативним стресом під час інфекції SARS-CoV-2. На додаток до гіперметаболічної відповіді та руйнування клітин, спричинених SARS-CoV-2, вірус також захоплює мітохондрії для реплікації, викликаючи зміну її проникності та витік мтДНК у кровообіг [115, 116] та сприяючи активації імунної системи, що посилює запальну реакцію [117]. Крім того, мтДНК більш вразлива до пошкодження реактивними формами кисню (РФК), ніж ядерна ДНК [118] через відсутність ефективної репарації мтДНК і відсутність захисту гістонів [117]. Після її пошкодження, рівні мтДНК змінюються і знижуються, збільшуючи мітохондріальну дисфункцію і посилюючи захворювання через цикл позитивного зворотного зв'язку [114, 119]. Таким чином, виявлення зниження рівня мтДНК може відображати первинне пошкодження мтДНК, спричинене запальною реакцією на COVID-19, що в перспективі призводить до розвитку ПКС.

Крім того, такі фактори, як старіння та метаболічні зміни, можуть виснажувати кількість копій мтДНК та знижувати біогенез мітохондрій у пацієнтів з ЦД 2-го типу [219]. Пов'язане з віком зниження функції мітохондрій сприяє різним системним змінам, підвищуючи вразливість до

патологічних процесів і створюючи порочне коло для метаболічних і імунітопосередкованих порушень [220]. Фактично, низький рівень мтДНК може відображати мітохондріальну дисфункцію, оскільки мітохондріальна ДНК кодує 13 білків, що беруть участь у дихальному ланцюзі, і деякі білки, що регулюють експресію ядерних генів, включно з елементами антиоксидантної відповіді (ARE) та ARE- регулюючі стрес-чутливі фактори транскрипції, такі як NFE2L2/NRF2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) [221, 222]. Тому зниження мтДНК може впливати не лише на продукування аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), але і на мітохондріально-ядерну інтеграцію у відповідь на різні фактори. З іншого боку, зниження рівня мтДНК і мітохондріальна дисфункція можуть визначати збій активності лейкоцитів і, отже, змінені запальні та імунні реакції, що сприяють розвитку ПКС після важкого перебігу COVID-19.

У нашому дослідженні ми були першими, хто проаналізував рівень мтДНК з точки зору різних проявів ПКС. Однак ми не виявили достовірних відмінностей у рівнях мтДНК між підгрупами клінічного фенотипу ($p=0,572$). Не виключено, що нездатність знайти зв'язки з різними функціональними фенотипами ПКС може бути пов'язана з обмеженим розміром вибірки.

Багатофункціональність мітохондрій сприяє захисту клітин від вірусної агресії шляхом активації мітохондріальної противірусної сигнальної системи (MAVS) та мітохондріальної ДНК-залежної активації імунної системи [223]. Вірус SARS-CoV-2 порушує функцію мітохондрій, підвищуючи рівень аніонів супероксиду мітохондрій, потенціал мембрани мітохондрій та вивільненням мтДНК [106]. Витік мтДНК з клітин призводить до збільшення вмісту безклітинної мтДНК [224]. Останні можуть продовжувати запалення та сприяти агресивності прозапальних цитокінів, оскільки імунні клітини розпізнають позаклітинну ДНК як патоген-асоційований молекулярний патерн (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), що викликає активацію Toll-подібних рецепторів (TLR) та відповідь вродженого імунітету [220]. Наприклад, TLR9 запускає запальні реакції, які призводять до ендотеліальної дисфункції та

впливають на тяжкість клінічних проявів COVID-19 [106]. Клінічно вс-СРБ та запальні цитокіни, такі як ІЛ-6, можуть бути важливими маркерами тяжкості COVID-19 та розвитку ПКС. Ми спостерігали зворотну кореляцію між рівнем мтДНК та ІЛ-6 у всіх пацієнтів.

На основі визначення можливих механізмів розвитку ПКС побудовано чотири багатофакторні логістичні регресійні моделі. Важливо, що всі моделі визначали низький рівень мтДНК як один із найважливіших факторів, що сприяють розвитку ПКС у пацієнтів з ЦД. Інші біомаркери, пов'язані з розвитком ПКС, включали HbA1c, який відображає метаболічний контроль ЦД 2-го типу, і концентрацію вітаміну D у сироватці крові. Вітамін D₃ є одним із ключових контролерів системного запалення, оксидативного стресу та функції мітохондріальних дихальних шляхів і, отже, процесу старіння людини [225]. Дефіцит вітаміну D₃ був пов'язаний з тяжкістю перебігу захворювання та смертністю пацієнтів з COVID-19 [226], а нижчий 25(OH) рівень вітаміну D₃ також частіше спостерігали у пацієнтів з тривалим COVID-19, ніж у тих, хто не мав ПКС [227]. У нашому дослідженні низький рівень вітаміну D₃ у сироватці крові, незалежно від мтДНК, був передвісником ПКС. Важливо, що інші прогностичні фактори розвитку ПКС містять або клінічні особливості терапії COVID-19, або кисневу терапію, або стероїдну терапію як характерну ознаку тяжкості інфекції SARS-CoV-2. Ці результати підтверджують раніше повідомлений зв'язок між розвитком ПКС і попередньою історією хвороби COVID-19. Такий зв'язок може відображати довгострокову дисфункцію імунних клітин та можливі метаболічні зміни, виявляючи відкладені наслідки інфекції SARS-CoV-2.

Тоді як попередні дослідження продемонстрували прогностичну цінність HbA1c в оцінці тяжкості COVID-19 у пацієнтів з ЦД 2-го типу [216], наше дослідження є одним з перших наголошує на важливості доковідного рівня HbA1c у прогнозуванні розвитку ПКС. Окрім того, HbA1c був визнаний потужним індикатором біологічного віку, що підтверджує концепцію про те, що прискорене біологічне старіння може відігравати вирішальну роль у

виникненні ПКС [217]. Подальше вивчення регуляторних характеристик HbA1c та маркерів мітохондріального пошкодження має вирішальне значення, оскільки це може допомогти у визначенні ефективних терапевтичних мішеней та покращенні прогнозу пацієнтів із ПКС в анамнезі. Для досягнення цієї мети необхідно розглянути різні стратегії довгострокового лікування цього стану. Поєднання протидіабетичної терапії з мітохондріальною терапією, включаючи антиоксидант CoQ10, інгібітори гліколізу, вітамін Е та мінерали, а також регулярні фізичні вправи можуть допомогти пацієнтам із симптомами ПКС досягти швидшого одужання [228, 229].

Резюме. Проведене дисертаційне дослідження на тему «Особливості перебігу та предиктори важкості постковідного синдрому у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу» проаналізувало та оцінило перспективні ранні маркери ПКС у пацієнтів з ЦД 2-го типу. Встановлено, що пацієнти, у яких вперше діагностували ЦД 2-го типу, які мали HbA1c вище 9,2%, мали попередні серцево-судинні або цереброваскулярні захворювання, а також мали тяжкий перебіг COVID-19, пов'язаний з механічною вентиляцією легень, мали високий ризик розвитку ПКС.

Було визначено, що довжина теломер та HbA1c значною мірою пов'язані з розвитком ПКС в осіб з ЦД 2-го типу, що свідчить про потенціал показників довжини теломер як прогностичного біомаркери.

Різні статистичні моделі виявили найбільш значущі зв'язки ПКС з рівнями мтДНК і HbA1c. За даними багатофакторного логістичного регресійного аналізу, низький рівень мтДНК асоціювався з розвитком ПКС незалежно від кисневої, глюкокортикоїдної терапії та тяжкості перебігу COVID-19. Прогностичним біомаркером розвитку ПКС у хворих на ЦД 2-го типу можна вважати вміст мтДНК з граничним значенням $\leq 1,62$.

Застосування вказаних результатів у практику дозволить провести вчасну діагностику пацієнтів, визначити прогностичні критерії та попередити прогресування ПКС у людей із ЦД 2-го типу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі ретроспективного аналізу та комплексного дослідження клінічних, біохімічних, імунологічних та молекулярно-генетичних показників вирішено актуальне науково-практичне завдання сучасної ендокринології – підвищення ефективності діагностики та встановлення факторів ризику асоційованих з розвитком постковідного синдрому (ПКС) у пацієнтів із ЦД типу 2:

1. Виявлено, що пацієнти з вперше діагностованим ЦД 2-го типу, HbA1c вище 9,2%, наявністю серцево-судинних або цереброваскулярних подій в анамнезі, та ті, які перехворіли на важку форму COVID-19, яка потребувала механічної вентиляції легень, характеризуються високим ризиком розвитку ПКС. Встановлено, що використання аналогів інсуліну (ВІШ 2,28 95% ДІ 1,31 – 3,94; $p=0,003$) порівняно з людським інсуліном (ВІШ 0,67 95% СІ 0,39 – 1,15; $p=0,146$) асоційовано з розвитком ПКС.

2. Продемонстровано, що ЦД 2-го типу, який вперше діагностований під час або після гострої фази COVID-19, частіше спостерігається в осіб із нормальною вагою/надмірною вагою та характеризується тенденцією до більш агресивного перебігу порівняно з відповідними пацієнтами із початком ЦД 2-го типу щонайменше за 3 місяці до COVID-19 (HbA1c - 7,8 (6,5–9,4) проти 7,0 (6,5–8,8) %; $p=0,344$).

3. У пацієнтів із ПКС та ЦД 2-го типу встановлено статистично значуще нижчу середню довжину теломер порівняно з тими в кого даний синдром не розвинувся ($1,1 \pm 0,2$ та $1,28 \pm 0,24$; $p=0,003$). У субаналізі в пацієнтів групи ПКС спостерігалось значуще вкорочення теломер в людей старшого віку (більше 60 років) порівняно із хворими молодшими за 60 років ($p=0,050$). В одновимірному аналізі Пірсона встановлено зворотну кореляцію між відносною довжиною теломер та прозапальними маркерами – ІЛ-6 ($r=-0,318$; $p=0,035$) та високочутливим СРБ ($r=-0,322$; $p=0,033$), лише в групі пацієнтів з ПКС.

4. Встановлено статистично значуще нижчий вміст мтДНК у пацієнтів з ЦД 2-го типу з ПКС, ніж у пацієнтів без ПКС ($1,26 \pm 0,25$ проти $1,44 \pm 0,24$; $p=0,011$). У гендерно-обумовленому та віковому аналізі кількість мтДНК статистично значуще не відрізнялася між підгрупами. При порівняльній оцінці клінічних фенотипів ПКС достовірної різниці у вмісті мтДНК не виявлено ($p=0,572$).

5. За даними покрокового багатовимірною логістичного регресійного аналізу, низький вміст мтДНК асоційований з розвитком ПКС, незалежно від кисневої (Нейджелкерк $R^2=0,334$), глюкокортикоїдної терапії (Нейджелкерк $R^2=0,331$) та тяжкості COVID-19 (Нейджелкерк $R^2=0,335$). У моделі 4 киснева підтримка в гострій фазі COVID-19, поточний дефіцит вітаміну D₃ та низький рівень мтДНК були пов'язані з ПКС (Nagelkerke $R^2=0,316$).

6. При застосуванні алгоритмів на основі машинного навчання встановлено, що найкращою моделлю для прогнозування ПКС була модель градієнтного бустінгу (Gradient Boosting Model). Встановлено, що укорочення довжини теломер, низький рівень мтДНК в лейкоцитах периферичної крові та вищий рівень HbA1c тісно пов'язані та проявляють найсильніший вплив на розвиток ПКС. Діагностична цінність найефективнішої моделі з використанням мтДНК (AUROC 0,811) була вищою в порівнянні із моделлю на основі довжини теломер (AUROC 0,751).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для прогнозування розвитку ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу, які перенесли COVID-19 ключову роль відіграють наступні фактори: жіноча стать, тяжкість перебігу COVID-19, застосування штучної вентиляції легень, вперше діагностований діабет під час COVID-19, HbA1c вище 9,2%, лікування аналогами інсуліну, а також інфаркт міокарда або інсульт в анамнезі.

2. Укорочення довжини теломер прискорює біологічне старіння і разом з підвищенням HbA1c збільшує ризик розвитку ПКС. З метою підвищення ефективності діагностики ПКС у пацієнтів із ЦД 2-го типу в якості прогностичних біомаркерів можна використовувати вкорочення довжини теломер нижче 1,02 та/або вміст мтДНК з граничним значенням $\leq 1,62$.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ather A, Patel B, Ruparel NB, Diogenes A, Hargreaves KM (2020) Coronavirus Disease 19 (COVID-19): Implications for Clinical Dental Care. *Journal of endodontics* 46:584–595
2. Ludwig S, Zarbock A (2020) Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesthesia and Analgesia* 131:93–96
3. Wu Z, McGoogan JM (2020) Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *JAMA* 323:1239
4. Chawla R, Madhu S, Makkar B, Ghosh S, Saboo B, Kalra S (2020) RSSDI-ESI clinical practice recommendations for the management of type 2 diabetes mellitus 2020. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 24:1
5. Mittal J, Ghosh A, Bhatt SP, Anoop S, Ansari IA, Misra A (2021) High prevalence of post COVID-19 fatigue in patients with type 2 diabetes: A case-control study. *Diabetes & metabolic syndrome* 15:102302
6. Robb CT, Goepp M, Rossi AG, Yao C (2020) Non-steroidal anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and COVID-19. *British journal of pharmacology* 177:4899–4920
7. Bindu S, Mazumder S, Bandyopadhyay U (2020) Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology* 180:114147
8. Rogers MAM, Aronoff DM (2016) The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 22:178.e1-178.e9
9. Halpin SJ, McIvor C, Whyatt G, et al (2021) Postdischarge symptoms and rehabilitation needs in survivors of COVID-19 infection: A cross-sectional evaluation. *Journal of Medical Virology* 93:1013–1022
10. Augustin M, Schommers P, Stecher M, et al (2021) Post-COVID syndrome

- in non-hospitalised patients with COVID-19: a longitudinal prospective cohort study. *The Lancet Regional Health - Europe* 6:100122
11. Huang C, Huang L, Wang Y, et al (2021) 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *The Lancet* 397:220–232
 12. Gupta R, Misra A (2020) Contentious issues and evolving concepts in the clinical presentation and management of patients with COVID-19 infection with reference to use of therapeutic and other drugs used in Co-morbid diseases (Hypertension, diabetes etc). *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 14:251–254
 13. Nelson JE, Roth CL, Wilson LA, et al (2016) Vitamin D deficiency is associated with increased risk of non-alcoholic steatohepatitis in adults with non-alcoholic fatty liver disease: Possible role for MAPK and NF- κ B? *American Journal of Gastroenterology* 111:852–863
 14. FALALYEYEV T, KOMISARENKO I, YANCHYSHYN A, KOVALCHUK O, LOZKO Y, TSYRYUK O, FAGOONEE S, KOBLYIAK N (2021) Vitamin D in the prevention and treatment of type-2 diabetes and associated diseases: a critical view during COVID-19 time. *Minerva Biotechnology and Biomolecular Research*. <https://doi.org/10.23736/S2724-542X.21.02766-X>
 15. Crawford AL, Laiteerapong N (2024) Type 2 Diabetes. *Annals of internal medicine* 177:ITC81–ITC96
 16. Strati M, Moustaki M, Psaltopoulou T, Vryonidou A, Paschou SA (2024) Early onset type 2 diabetes mellitus: an update. *Endocrine* 85:965–978
 17. Taylor R (2024) Understanding the cause of type 2 diabetes. *The lancet Diabetes & endocrinology* 12:664–673
 18. Ong KL, Stafford LK, McLaughlin SA, et al (2023) Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet* (London, England). <https://doi.org/10.1016/S0140->

- 6736(23)01301-6
19. Abumayyaleh M, Núñez Gil IJ, Viana-LLamas MC, et al (2023) Post-COVID-19 syndrome and diabetes mellitus: a propensity-matched analysis of the International HOPE-II COVID-19 Registry. *Frontiers in endocrinology* 14:1167087
 20. Petakh P, Kobyliak N, Kamyshnyi A (2023) Gut microbiota in patients with COVID-19 and type 2 diabetes: A culture-based method. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 13:1142578
 21. Pranata R, Henrina J, Raffaello WM, Lawrensia S, Huang I (2021) Diabetes and COVID-19: The past, the present, and the future. *Metabolism: clinical and experimental* 121:154814
 22. Nazari P, Pozzilli P (2023) Type 2 diabetes and Covid-19: Lessons learnt, unanswered questions and hints for the future. *Diabetes research and clinical practice* 204:110896
 23. Abdul-Ghani M, Maffei P, DeFronzo RA (2024) Managing insulin resistance: the forgotten pathophysiological component of type 2 diabetes. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 12:674–680
 24. Zhao X, An X, Yang C, Sun W, Ji H, Lian F (2023) The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease. *Frontiers in Endocrinology*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1149239>
 25. Lee S-H, Park S-Y, Choi CS (2022) Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes & metabolism journal* 46:15–37
 26. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, et al (2018) Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 110:364–379
 27. Nederstigt C, Corssmit EPM, De Koning EJP, Dekkers OM (2016) Incidence and prevalence of thyroid dysfunction in type 1 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications* 30:420–425
 28. Gu Y, Li H, Bao X, et al (2017) The relationship between thyroid function and the prevalence of type 2 diabetes mellitus in euthyroid subjects. *Journal*

- of Clinical Endocrinology and Metabolism 102:434–442
29. Eslami M, Sadrifar S, Karbalaee M, Keikha M, Kobylak NM, Yousefi B (2020) Importance of the Microbiota Inhibitory Mechanism on the Warburg Effect in Colorectal Cancer Cells. *Journal of Gastrointestinal Cancer* 51:738–747
 30. Lu X, Xie Q, Pan X, Zhang R, Zhang X, Peng G, Zhang Y, Shen S, Tong N (2024) Type 2 diabetes mellitus in adults: pathogenesis, prevention and therapy. *Signal transduction and targeted therapy* 9:262
 31. Lu X, Xie Q, Pan X, Zhang R, Zhang X, Peng G, Zhang Y, Shen S, Tong N (2024) Type 2 diabetes mellitus in adults: pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 9:262
 32. Rohm T V, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY (2022) Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity* 55:31–55
 33. Imamura M, Maeda S (2024) Perspectives on genetic studies of type 2 diabetes from the genome-wide association studies era to precision medicine. *Journal of Diabetes Investigation* 15:410–422
 34. Smith K, Deutsch AJ, McGrail C, et al (2024) Multi-ancestry polygenic mechanisms of type 2 diabetes. *Nature Medicine* 30:1065–1074
 35. Yousri NA, Suhre K, Yassin E, Al-Shakaki A, Robay A, Elshafei M, Chidiac O, Hunt SC, Crystal RG, Fakhro KA (2022) Metabolic and Metabo-Clinical Signatures of Type 2 Diabetes, Obesity, Retinopathy, and Dyslipidemia. *Diabetes* 71:184–205
 36. Marushchak M, Kozak K, Krynytska I (2022) Comorbid overweight/obesity and chronic pancreatitis exacerbate the dyslipidemia progression in type 2 diabetic patients. *Endocrine Regulations* 56:168–177
 37. Reed J, Bain S, Kanamarlapudi V (2021) A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy Volume* 14:3567–3602
 38. Pilz S, März W, Cashman KD, et al (2018) Rationale and plan for vitamin D

- food fortification: A review and guidance paper. *Frontiers in Endocrinology*.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00373>
39. Hou Y, Xiang J, Wang B, Duan S, Song R, Zhou W, Tan S, He B (2024) Pathogenesis and comprehensive treatment strategies of sarcopenia in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Endocrinology*.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1263650>
 40. Łukasiewicz A, Cichoń E, Kostecka B, Kiejna A, Jodko-Modlińska A, Obrębski M, Kokoszka A (2022) Association of Higher Rates of Type 2 Diabetes (T2DM) Complications with Psychological and Demographic Variables: Results of a Cross-Sectional Study. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy* 15:3303–3317
 41. Haw JS, Shah M, Turbow S, Egeolu M, Umpierrez G (2021) Diabetes Complications in Racial and Ethnic Minority Populations in the USA. *Current Diabetes Reports* 21:2
 42. Raz I (2013) Guideline Approach to Therapy in Patients With Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 36:S139–S144
 43. Niemann MJ, Tucker LA, Bailey BW, Davidson LE (2020) Strength Training and Insulin Resistance: The Mediating Role of Body Composition. *Journal of diabetes research* 2020:7694825
 44. Htike ZZ, Zaccardi F, Papamargaritis D, Webb DR, Khunti K, Davies MJ (2017) Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: <scp>A</scp> systematic review and mixed-treatment comparison analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 19:524–536
 45. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ (2021) GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. *Molecular Metabolism* 46:101102
 46. Castellana M, Cignarelli A, Brescia F, Perrini S, Natalicchio A, Laviola L, Giorgino F (2019) Efficacy and safety of GLP-1 receptor agonists as add-on to SGLT2 inhibitors in type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Scientific Reports* 9:19351

47. Krisanapan P, Sanpawithayakul K, Pattharanitima P, Thongprayoon C, Miao J, Mao MA, Suppadungsuk S, Tangpanithandee S, Craici IM, Cheungpasitporn W (2024) Safety and Efficacy of GLP-1 Receptor Agonists in Type 2 Diabetes Mellitus with Advanced and End-Stage Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diseases* 12:14
48. Apperloo EM, Neuen BL, Fletcher RA, et al (2024) Efficacy and safety of SGLT2 inhibitors with and without glucagon-like peptide 1 receptor agonists: a SMART-C collaborative meta-analysis of randomised controlled trials. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 12:545–557
49. Syn NL, Cummings DE, Wang LZ, et al (2021) Association of metabolic–bariatric surgery with long-term survival in adults with and without diabetes: a one-stage meta-analysis of matched cohort and prospective controlled studies with 174 772 participants. *The Lancet* 397:1830–1841
50. Chiasson J-L (2009) Early Insulin Use in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 32:S270–S274
51. Reed J, Bain S, Kanamarlapudi V (2021) A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy* 14:3567–3602
52. Taylor R (2013) Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 36:1047–1055
53. Zhou X, Wu H, Long R, et al (2020) Oral delivery of insulin with intelligent glucose-responsive switch for blood glucose regulation. *Journal of Nanobiotechnology* 18:96
54. Xiao Y, Tang Z, Wang J, Liu C, Kong N, Farokhzad OC, Tao W (2020) Oral Insulin Delivery Platforms: Strategies To Address the Biological Barriers. *Angewandte Chemie International Edition* 59:19787–19795
55. ELDOR R, FLEMING GA, NEUTEL J, HOMER KE, KIDRON M, ROSENSTOCK J (2020) 105-LB: Evening Oral Insulin (ORMD-0801) Glycemic Effects in Uncontrolled T2DM Patients. *Diabetes*.
<https://doi.org/10.2337/db20-105-LB>

56. Bahman F, Taurin S, Altayeb D, Taha S, Bakhiet M, Greish K (2020) Oral Insulin Delivery Using Poly (Styrene Co-Maleic Acid) Micelles in a Diabetic Mouse Model. *Pharmaceutics* 12:1026
57. Deepak Kumar, Priyanka Pramod Pawar, Hari Gonaygunta, Geeta Sandeep Nadella, Karthik Meduri, Shoumya Singh (2024) Machine learning's role in personalized medicine & treatment optimization. *World Journal of Advanced Research and Reviews* 21:1675–1686
58. Ngo D, Benson MD, Long JZ, et al (2021) Proteomic profiling reveals biomarkers and pathways in type 2 diabetes risk. *JCI Insight*.
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.144392>
59. Luo D, Gao X, Zhu X, Xu J, Gao P, Zou J, Fan Q, Xu Y, Liu T (2024) Biomarker screening using integrated bioinformatics for the development of “normal—impaired glucose intolerance—type 2 diabetes mellitus.” *Scientific Reports* 14:4558
60. Lotfaliany M, Mansournia MA, Azizi F, Hadaegh F, Zafari N, Ghanbarian A, Mirmiran P, Oldenburg B, Khalili D (2020) Long-term effectiveness of a lifestyle intervention on the prevention of type 2 diabetes in a middle-income country. *Scientific Reports* 10:14173
61. Tuomilehto J, Schwarz P, Lindström J (2011) Long-term benefits from lifestyle interventions for type 2 diabetes prevention: time to expand the efforts. *Diabetes care* 34 Suppl 2:S210-4
62. Andrae SJ, Reeves H, Casey T, Lindberg A, Pickett KA (2024) A systematic review of diabetes prevention programs adapted to include family members. *Preventive medicine reports* 39:102655
63. Zhou B, Perel P, Mensah GA, Ezzati M (2021) Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nature reviews Cardiology* 18:785–802
64. da Cruz JRS (2024) NUTRITIONAL STRATEGIES FOR REDUCING SUGAR-SWEETENED BEVERAGE CONSUMPTION AND PREVENTING METABOLIC DISEASES. *Revista Sistemática* 14:569–575

65. Krieger J, Bleich SN, Scarmo S, Ng SW (2021) Sugar-Sweetened Beverage Reduction Policies: Progress and Promise. *Annual Review of Public Health* 42:439–461
66. FALALYEYEVA T, PELLICANO R (2021) Hot topics in chronic inflammation-induced diseases at the time of COVID-19. *Minerva Biotechnology and Biomolecular Research*. <https://doi.org/10.23736/S2724-542X.21.02803-0>
67. Bornstein SR, Rubino F, Khunti K, et al (2020) Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19. *The Lancet Diabetes and Endocrinology* 8:546–550
68. Al-Aly Z, Xie Y, Bowe B (2021) High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. *Nature* 594:259–264
69. Gupta A, Duggal R (2023) Incidence of New-onset Hypertension and New-onset Type 2 Diabetes during or after SARS-CoV-2 Infection. *The Journal of the Association of Physicians of India* 71:78–82
70. Caci G, Albin A, Malerba M, Noonan DM, Pochetti P, Polosa R (2020) COVID-19 and Obesity: Dangerous Liaisons. *Journal of Clinical Medicine* 9:2511
71. Liskova A, Koklesova L, Samec M, et al (2021) Targeting phytoprotection in the COVID-19-induced lung damage and associated systemic effects—the evidence-based 3PM proposition to mitigate individual risks. *EPMA Journal* 12:325–347
72. Xie Y, Al-Aly Z (2022) Risks and burdens of incident diabetes in long COVID: a cohort study. *The lancet Diabetes & endocrinology* 10:311–321
73. Muniyappa R, Gubbi S (2020) COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 318:E736–E741
74. Wu CT, Lidsky P V., Xiao Y, et al (2021) SARS-CoV-2 infects human pancreatic β cells and elicits β cell impairment. *Cell metabolism* 33:1565-1576.e5

75. Hussain A, Bhowmik B, do Vale Moreira NC (2020) COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes Research and Clinical Practice* 162:108142
76. Zhu L, She Z-G, Cheng X, et al (2020) Association of Blood Glucose Control and Outcomes in Patients with COVID-19 and Pre-existing Type 2 Diabetes. *Cell Metabolism* 31:1068-1077.e3
77. Bramante CT, Ingraham NE, Murray TA, et al (2021) Metformin and risk of mortality in patients hospitalised with COVID-19: a retrospective cohort analysis. *The Lancet Healthy Longevity* 2:e34–e41
78. (2021) Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine* 384:693–704
79. Arora C, Malhotra A, Ranjan P, Vikram NK, Dwivedi SN, Singh N, Shalimar (2021) Perceived barriers and facilitators for adherence to lifestyle prescription: Perspective of obese patients with non alcoholic fatty liver disease from north India. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 15:102138
80. Gupta T, Swami MK, Choudhary S, Khivsara A, Suthar N, Nebhinani N, Gehlawat P (2022) Psychological Impact of the COVID-19 Pandemic and Associated Lockdown on Outpatients With Psychiatric Illness. *The Primary Care Companion For CNS Disorders*.
<https://doi.org/10.4088/PCC.22m03311>
81. Zhou F, Yu T, Du R, et al (2020) Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet* 395:1054–1062
82. Jimeno-Almazán A, Pallarés JG, Buendía-Romero Á, Martínez-Cava A, Franco-López F, Sánchez-Alcaraz Martínez BJ, Bernal-Morel E, Courel-Ibáñez J (2021) Post-COVID-19 Syndrome and the Potential Benefits of Exercise. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18:5329
83. Xiong J, Lipsitz O, Nasri F, et al (2020) Impact of COVID-19 pandemic on

- mental health in the general population: A systematic review. *Journal of Affective Disorders* 277:55–64
84. Aludwan M, Kobyliak N, Abenavoli L, Kyriienko D, Fagoonee S, Pellicano R, Komisarenko I (2020) Vitamin D3 deficiency is associated with more severe insulin resistance and metformin use in patients with type 2 diabetes. *Minerva Endocrinologica*. <https://doi.org/10.23736/S0391-1977.20.03161-2>
 85. Yakaryılmaz FD, Öztürk ZA (2017) Treatment of type 2 diabetes mellitus in the elderly. *World Journal of Diabetes* 8:278
 86. Actis GC, Ribaldone DG, Fagoonee S, Pellicano R (2020) COVID-19: a user's guide, status of the art, and an original proposal to terminate viral recurrence. *Minerva medica*. <https://doi.org/10.23736/S0026-4806.20.07054-8>
 87. Lips P, Eekhoff M, van Schoor N, Oosterwerff M, de Jongh R, Krul-Poel Y, Simsek S (2017) Vitamin D and type 2 diabetes. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 173:280–285
 88. Seydel Ş, Beilfuss A, Kahraman A, Aksoy K, Gerken G, Akkiz H, Canbay A (2011) Vitamin D ameliorates stress ligand expression elicited by free fatty acids in the hepatic stellate cell line LX-2. *Turkish Journal of Gastroenterology* 22:400–407
 89. Legarth C, Grimm D, Krüger M, Wehland M, Infanger M (2020) Potential beneficial effects of vitamin d in coronary artery disease. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu12010099>
 90. Froidure A, Mahieu M, Hoton D, Laterre PF, Yombi JC, Koenig S, Ghaye B, Defour JP, Decottignies A (2020) Short telomeres increase the risk of severe COVID-19. *Aging* 12:19911–19922
 91. Teixeira MZ (2021) Telomere length: biological marker of cellular vitality, aging, and health-disease process. *Revista da Associacao Medica Brasileira* (1992) 67:173–177
 92. Retuerto M, Lledó A, Fernandez-Varas B, et al (2022) Shorter telomere length is associated with COVID-19 hospitalization and with persistence of

- radiographic lung abnormalities. *Immunity & ageing : I & A* 19:38
93. Armanios M (2022) The Role of Telomeres in Human Disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 23:363–381
 94. Birkisdóttir MB, Jaarsma D, Brandt RMC, et al (2021) Unlike dietary restriction, rapamycin fails to extend lifespan and reduce transcription stress in progeroid DNA repair-deficient mice. *Aging Cell*.
<https://doi.org/10.1111/accel.13302>
 95. Mongelli A, Barbi V, Zamperla MG, et al (2021) Evidence for Biological Age Acceleration and Telomere Shortening in COVID-19 Survivors. *International journal of molecular sciences* 22:6151
 96. Harutyunyan T, Sargsyan A, Kalashyan L, Stepanyan N, Aroutiounian R, Liehr T, Hovhannisyan G (2024) DNA Damage in Moderate and Severe COVID-19 Cases: Relation to Demographic, Clinical, and Laboratory Parameters. *International Journal of Molecular Sciences* 25:10293
 97. Sepe S, Rossiello F, Cancila V, et al (2022) DNA damage response at telomeres boosts the transcription of SARS-CoV-2 receptor ACE2 during aging. *EMBO reports* 23:e53658
 98. Maroto-Rodriguez J, Delgado-Velandia M, Ortolá R, García-Esquinas E, Martinez-Gomez D, Struijk EA, Lopez-Garcia E, Rodríguez-Artalejo F, Sotos-Prieto M (2022) A Mediterranean Lifestyle and Frailty Incidence in Older Adults: The Seniors-ENRICA-1 Cohort. *The Journals of Gerontology: Series A* 77:1845–1852
 99. Revy P, Kannengiesser C, Bertuch AA (2023) Genetics of human telomere biology disorders. *Nature Reviews Genetics* 24:86–108
 100. Simões HG, Rosa TS, Sousa CV, Aguiar S da S, Motta-Santos D, Degens H, Korhonen MT, Campbell CSG (2020) Does Longer Leukocyte Telomere Length and Higher Physical Fitness Protect Master Athletes From Consequences of Coronavirus (SARS-CoV-2) Infection? *Frontiers in sports and active living* 2:87
 101. Szymczak P, Grzybowska ME, Sawicki S, Wydra DG (2021) Laparoscopic

- Pectopexy—CUSUM Learning Curve and Perioperative Complications Analysis. *Journal of Clinical Medicine* 10:1052
102. Davies DA, Adlimoghaddam A, Albensi BC (2021) The Effect of COVID-19 on NF- κ B and Neurological Manifestations of Disease. *Molecular neurobiology* 58:4178–4187
 103. Attiq A, Yao LJ, Afzal S, Khan MA (2021) The triumvirate of NF- κ B, inflammation and cytokine storm in COVID-19. *International Immunopharmacology* 101:108255
 104. Shay JW (2016) Role of Telomeres and Telomerase in Aging and Cancer. *Cancer discovery* 6:584–93
 105. Madsen HB, Durhuus JA, Andersen O, Straten P, Rahbech A, Desler C (2024) Mitochondrial dysfunction in acute and post-acute phases of COVID-19 and risk of non-communicable diseases. *npj Metabolic Health and Disease* 2024 2:1 2:1–8
 106. Costa TJ, Potje SR, Fraga-Silva TFC, et al (2022) Mitochondrial DNA and TLR9 activation contribute to SARS-CoV-2-induced endothelial cell damage. *Vascular pharmacology* 142:106946
 107. Streng LWJM, de Wijs CJ, Raat NJH, Specht PAC, Sneiders D, van der Kaaij M, Endeman H, Mik EG, Harms FA (2022) In Vivo and Ex Vivo Mitochondrial Function in COVID-19 Patients on the Intensive Care Unit. *Biomedicines* 10:7161
 108. Chen M, Yang D, Hu X, Jiang G, Li T, Ouyang Z, Deng J (2021) Stachydrine hydrochloride inhibits osteoclastogenesis by regulating the NF- κ B and p38 signaling pathways to alleviate postmenopausal osteoporosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 542:1–8
 109. Markowitz LE, Schiller JT (2021) Human Papillomavirus Vaccines. *The Journal of Infectious Diseases* 224:S367–S378
 110. Scozzi D, Cano M, Ma L, et al (2021) Circulating mitochondrial DNA is an early indicator of severe illness and mortality from COVID-19. *JCI insight* 6:e143299

111. Mahmoodpoor A, Mohammadzadeh M, Asghari R, Tagizadeh M, Iranpour A, Rezayi M, Pahnvar AJ, Emamalizadeh B, Sohrabifar N, Kazeminasab S (2023) Prognostic potential of circulating cell free mitochondrial DNA levels in COVID-19 patients. *Molecular biology reports* 50:10249–10255
112. Hofmann H, Önder A, Becker J, Gröger M, Müller MM, Zink F, Stein B, Radermacher P, Waller C (2023) Markers of oxidative stress during post-COVID-19 fatigue: a hypothesis-generating, exploratory pilot study on hospital employees. *Frontiers in medicine* 10:1305009
113. Hanson BA, Visvabharathy L, Orban ZS, et al (2023) Plasma proteomics show altered inflammatory and mitochondrial proteins in patients with neurologic symptoms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection. *Brain, behavior, and immunity* 114:462–474
114. Valdés-Aguayo JJ, Garza-Veloz I, Vargas-Rodríguez JR, et al (2021) Peripheral Blood Mitochondrial DNA Levels Were Modulated by SARS-CoV-2 Infection Severity and Its Lessening Was Associated With Mortality Among Hospitalized Patients With COVID-19. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 11:754708
115. Saleh J, Peyssonnaud C, Singh KK, Edeas M (2020) Mitochondria and microbiota dysfunction in COVID-19 pathogenesis. *Mitochondrion* 54:1–7
116. Valdés-Aguayo JJ, Garza-Veloz I, Badillo-Almaráz JI, et al (2021) Mitochondria and Mitochondrial DNA: Key Elements in the Pathogenesis and Exacerbation of the Inflammatory State Caused by COVID-19. *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 57:928
117. Croteau DL, Stierum RH, Bohr VA (1999) Mitochondrial DNA repair pathways. *Mutation research* 434:137–148
118. Yakes FM, Van Houten B (1997) Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:514–519
119. Dai DF, Rabinovitch PS, Ungvari Z (2012) Mitochondria and cardiovascular

- aging. *Circulation research* 110:1109–1124
120. Delpino MV, Quarleri J (2024) Aging mitochondria in the context of SARS-CoV-2: exploring interactions and implications. *Frontiers in Aging*.
<https://doi.org/10.3389/fragi.2024.1442323>
 121. Molnar T, Lehoczki A, Fekete M, Varnai R, Zavori L, Erdo-Bonyar S, Simon D, Berki T, Csecsei P, Ezer E (2024) Mitochondrial dysfunction in long COVID: mechanisms, consequences, and potential therapeutic approaches. *GeroScience* 46:5267–5286
 122. Babajani A, Hosseini-Monfared P, Abbaspour S, Jamshidi E, Niknejad H (2021) Targeted Mitochondrial Therapy With Over-Expressed MAVS Protein From Mesenchymal Stem Cells: A New Therapeutic Approach for COVID-19. *Frontiers in cell and developmental biology* 9:695362
 123. Singh KK, Chaubey G, Chen JY, Suravajhala P (2020) Decoding SARS-CoV-2 hijacking of host mitochondria in COVID-19 pathogenesis. *American journal of physiology Cell physiology* 319:C258–C267
 124. Clinical management of COVID-19. <https://www.who.int/teams/health-care-readiness/covid-19>. Accessed 27 Mar 2024
 125. Hegazy MA, Lithy RM, Abdel-Hamid HM, Wahba M, Ashoush OA, Hegazy MT, Ibrahim MHED, Abdelfatah D, Abdelghani A (2021) COVID-19 Disease Outcomes: Does Gastrointestinal Burden Play a Role? *Clinical and experimental gastroenterology* 14:199–207
 126. Кобиляк Н (2013) Порівняльна оцінка інструментальних методів діагностики неалкогольного стеатогепатозу у хворих на цукровий діабет типу 2 (клініко-експериментальне дослідження). Терноп. держ. мед. ун-т ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
 127. Abdel-Wareth L, Haq A, Turner A, et al (2013) Total vitamin D assay comparison of the roche diagnostics “vitamin D total” electrochemiluminescence protein binding assay with the chromsystems HPLC method in a population with both D2 and D3 forms of vitamin D. *Nutrients* 5:971–980

128. Little RR, Rohlfing C, Sacks DB (2019) The national glycohemoglobin standardization program: Over 20 years of improving hemoglobin A1c measurement. *Clinical Chemistry* 65:839–848
129. Cawthon RM (2009) Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic acids research* 37:e21
130. Guescini M, Sisti D, Rocchi MBL, Stocchi L, Stocchi V (2008) A new real-time PCR method to overcome significant quantitative inaccuracy due to slight amplification inhibition. *BMC bioinformatics* 9:326
131. Mykhalchyshyn G, Kobylak N, Bodnar P (2015) Diagnostic accuracy of acyl-ghrelin and its association with non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*.
<https://doi.org/10.1186/s40200-015-0170-1>
132. Sharma A, Tiwari S, Deb MK, Marty JL (2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2): a global pandemic and treatment strategies. *International journal of antimicrobial agents* 56:106054
133. Cao H, Baranova A, Wei X, Wang C, Zhang F (2023) Bidirectional causal associations between type 2 diabetes and COVID-19. *Journal of medical virology* 95:e28100
134. Rajpal A, Rahimi L, Ismail-Beigi F (2020) Factors leading to high morbidity and mortality of COVID-19 in patients with type 2 diabetes. *Journal of diabetes* 12:895–908
135. Yin Y, Rohli KE, Shen P, Lu H, Liu Y, Dou Q, Zhang L, Kong X, Yang S, Jia P (2021) The epidemiology, pathophysiological mechanisms, and management toward COVID-19 patients with Type 2 diabetes: A systematic review. *Primary care diabetes* 15:899–909
136. Wu KCH, He Q, Bennett AN, Li J, Chan KHK (2022) Shared genetic mechanism between type 2 diabetes and COVID-19 using pathway-based association analysis. *Frontiers in genetics* 13:1063519
137. Khunti K, Prato S Del, Mathieu C, Kahn SE, Gabbay RA, Buse JB (2021) COVID-19, Hyperglycemia, and New-Onset Diabetes. *Diabetes care*

44:2645–2655

138. Kim SH, Arora I, Hsia DS, Knowler WC, LeBlanc E, Mylonakis E, Pratley R, Pittas AG (2023) New-Onset Diabetes After COVID-19. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 108:E1164–E1174
139. Raveendran A V., Misra A (2021) Post COVID-19 Syndrome (“Long COVID”) and Diabetes: Challenges in Diagnosis and Management. *Diabetes & metabolic syndrome* 15:102235
140. Harding JL, Oviedo SA, Ali MK, Ofotokun I, Gander JC, Patel SA, Magliano DJ, Patzer RE (2023) The bidirectional association between diabetes and long-COVID-19 - A systematic review. *Diabetes research and clinical practice* 195:110202
141. Kirbiš S, Sobotkiewicz N, Schaubach BA, Završnik J, Kokol P, Završnik M, Blažun Vošner H (2023) The Effects of Diabetes and Being Overweight on Patients with Post-COVID-19 Syndrome. *Infectious disease reports* 15:747–757
142. Lai H, Yang M, Sun M, et al (2022) Risk of incident diabetes after COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *Metabolism: clinical and experimental* 137:155330
143. Matviichuk A, Yerokhovych V, Zemskov S, Ilkiv Y, Gurianov V, Shaienko Z, Falalyeyeva T, Sulaieva O, Kobylak N (2024) Unveiling risk factors for post-COVID-19 syndrome development in people with type 2 diabetes. *Frontiers in endocrinology* 15:1459171
144. Nance SA, Muir L, Lumeng C (2022) Adipose tissue macrophages: Regulators of adipose tissue immunometabolism during obesity. *Molecular metabolism* 66:101642
145. El-Sayed Moustafa JS, Jackson AU, Brotman SM, et al (2022) ACE2 expression in adipose tissue is associated with cardio-metabolic risk factors and cell type composition-implications for COVID-19. *International journal of obesity* (2005) 46:1478–1486
146. Yousefzadeh M, Henpita C, Vyas R, Soto-Palma C, Robbins P, Niedernhofer

- L (2021) DNA damage-how and why we age? *eLife* 10:1–17
147. Rossiello F, Jurk D, Passos JF, d'Adda di Fagagna F (2022) Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nature cell biology* 24:135–147
 148. Gruber H-J, Semeraro MD, Renner W, Herrmann M (2021) Telomeres and Age-Related Diseases. *Biomedicines* 9:1335
 149. Arbeev KG, Verhulst S, Steenstrup T, et al (2020) Association of Leukocyte Telomere Length With Mortality Among Adult Participants in 3 Longitudinal Studies. *JAMA network open* 3:e200023
 150. Nilsson PM, Tufvesson H, Leosdottir M, Melander O (2013) Telomeres and cardiovascular disease risk: an update 2013. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* 162:371–380
 151. Schneider C V., Schneider KM, Teumer A, Rudolph KL, Hartmann D, Rader DJ, Strnad P (2022) Association of Telomere Length With Risk of Disease and Mortality. *JAMA internal medicine* 182:291–300
 152. Meena J, Lenhard Rudolph K, Günes C (2015) Telomere Dysfunction, Chromosomal Instability and Cancer. Recent results in cancer research *Fortschritte der Krebsforschung Progres dans les recherches sur le cancer* 200:61–79
 153. Tamura Y, Takubo K, Aida J, Araki A, Ito H (2016) Telomere attrition and diabetes mellitus. *Geriatrics & gerontology international* 16 Suppl 1:66–74
 154. Tannous J, Mwangi B, Hasan KM, Narayana PA, Steinberg JL, Walss-Bass C, Gerard Moeller F, Schmitz JM, Lane SD (2019) Measures of possible allostatic load in comorbid cocaine and alcohol use disorder: Brain white matter integrity, telomere length, and anti-saccade performance. *PloS one* 14:e0199729
 155. Muezzinler A, Mons U, Dieffenbach AK, et al (2015) Smoking habits and leukocyte telomere length dynamics among older adults: Results from the ESTHER cohort. *Experimental gerontology* 70:18–25
 156. Lv N, Zhao Y, Liu X, Ye L, Liang Z, Kang Y, Dong Y, Wang W, Kolliputi

- N, Shi L (2022) Dysfunctional telomeres through mitostress-induced cGAS/STING activation to aggravate immune senescence and viral pneumonia. *Aging cell* 21:e13594
157. McGroder CF, Zhang D, Choudhury MA, Salvatore MM, D'Souza BM, Hoffman EA, Wei Y, Baldwin MR, Garcia CK (2021) Pulmonary fibrosis 4 months after COVID-19 is associated with severity of illness and blood leucocyte telomere length. *Thorax* 76:1242–1245
 158. Martínez P, Sánchez-Vazquez R, Saha A, Rodriguez-Duque MS, Naranjo-Gonzalo S, Osorio-Chavez JS, Villar-Ramos A V., Blasco MA (2023) Short telomeres in alveolar type II cells associate with lung fibrosis in post COVID-19 patients with cancer. *Aging* 15:4625–4641
 159. Matviichuk A, Yerokhovych V, Ilkiv Y, et al (2024) HbA1c and leukocyte mtDNA levels as major factors associated with post-COVID-19 syndrome in type 2 diabetes patients. *Scientific reports* 14:25533
 160. Bhowal C, Ghosh S, Ghatak D, De R (2023) Pathophysiological involvement of host mitochondria in SARS-CoV-2 infection that causes COVID-19: a comprehensive evidential insight. *Molecular and cellular biochemistry* 478:1325–1343
 161. Potus F, Mai V, Lebreton M, Malenfant S, Breton-Gagnon E, Lajoie AC, Boucherat O, Bonnet S, Provencher S (2020) Novel insights on the pulmonary vascular consequences of COVID-19. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology* 319:L277–L288
 162. Melchinger H, Jain K, Tyagi T, Hwa J (2019) Role of Platelet Mitochondria: Life in a Nucleus-Free Zone. *Frontiers in cardiovascular medicine* 6:153
 163. Medini H, Zirman A, Mishmar D (2021) Immune system cells from COVID-19 patients display compromised mitochondrial-nuclear expression co-regulation and rewiring toward glycolysis. *iScience* 24:103471
 164. Faizan MI, Chaudhuri R, Sagar S, et al (2022) NSP4 and ORF9b of SARS-CoV-2 Induce Pro-Inflammatory Mitochondrial DNA Release in Inner Membrane-Derived Vesicles. *Cells* 11:2969

165. Andargie TE, Tsuji N, Seifuddin F, et al (2021) Cell-free DNA maps COVID-19 tissue injury and risk of death and can cause tissue injury. *JCI insight* 6:e147610
166. Edinger F, Edinger S, Koch C, Markmann M, Hecker M, Sander M, Schneck E (2022) Peak Plasma Levels of mtDNA Serve as a Predictive Biomarker for COVID-19 in-Hospital Mortality. *Journal of clinical medicine* 11:7161
167. D'Souza F, Buzzetti R, Pozzilli P (2023) Diabetes, COVID-19, and questions unsolved. *Diabetes/metabolism research and reviews* 39:e3666
168. Maglietta G, Diodati F, Puntoni M, Lazzarelli S, Marcomini B, Patrizi L, Caminiti C (2022) Prognostic Factors for Post-COVID-19 Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of clinical medicine* 11:1541
169. Lemhöfer C, Bahmer T, Baumbach P, et al (2023) Variations and Predictors of Post-COVID Syndrome Severity in Patients Attending a Post-COVID Outpatient Clinic. *Journal of clinical medicine* 12:4013
170. Zemni I, Gara A, Bennasrallah C, et al (2024) Incidence and risk factors of post COVID-19 syndrome: a Tunisian cohort study. *BMC infectious diseases* 24:461
171. Fernóandez-De-las-Penas C, Guijarro C, Torres-Macho J, Velasco-Arribas M, Plaza-Canteli S, Hernóandez-Barrera V, Arias-Navalóon JA (2021) Diabetes and the Risk of Long-term Post-COVID Symptoms. *Diabetes* 70:2917–2921
172. Nassar M, Abosheaishaa H, Singh AK, Misra A, Bloomgarden Z (2023) Noninsulin-based antihyperglycemic medications in patients with diabetes and COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of diabetes* 15:86–96
173. Nguyen NN, Ho DS, Nguyen HS, Ho DKN, Li HY, Lin CY, Chiu HY, Chen YC (2022) Preadmission use of antidiabetic medications and mortality among patients with COVID-19 having type 2 diabetes: A meta-analysis. *Metabolism: clinical and experimental* 131:155196
174. Dimnjaković J, Buble T, Ivanko P, Pristaš I, Brborović O, Brborović H

- (2024) Association of anti-diabetic drugs and COVID-19 outcomes in patients with diabetes mellitus type 2 and cardiomyopathy. *Scientific reports* 14:7227
175. Mccarthy MW (2023) Metformin as a potential treatment for COVID-19. *Expert opinion on pharmacotherapy* 24:1199–1203
 176. Wise J (2023) Covid-19: Metformin reduces the risk of developing long term symptoms by 40%, study finds. *BMJ (Clinical research ed)* 381:p1306
 177. (2023) COVID-19 update: Metformin to prevent long COVID? *The Medical letter on drugs and therapeutics* 65:87–88
 178. Bramante CT, Buse JB, Liebovitz DM, et al (2023) Outpatient treatment of COVID-19 and incidence of post-COVID-19 condition over 10 months (COVID-OUT): a multicentre, randomised, quadruple-blind, parallel-group, phase 3 trial. *The Lancet Infectious diseases* 23:1119–1129
 179. Lima-Martínez MM, Carrera Boada C, Madera-Silva MD, Marín W, Contreras M (2021) COVID-19 and diabetes: A bidirectional relationship. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis* 33:151–157
 180. Heald AH, Williams R, Jenkins DA, Stewart S, Bakerly ND, Mccay K, Ollier W (2024) The prevalence of long COVID in people with diabetes mellitus-evidence from a UK cohort. *EClinicalMedicine* 71:102607
 181. Wu J, Zhang J, Sun X, Wang L, Xu Y, Zhang Y, Liu X, Dong C (2020) Influence of diabetes mellitus on the severity and fatality of SARS-CoV-2 (COVID-19) infection. *Diabetes, obesity & metabolism* 22:1907–1914
 182. Steenblock C, Hassanein M, Khan EG, et al (2022) Diabetes and COVID-19: Short- and Long-Term Consequences. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 54:503–509
 183. Primorac D, Vrdoljak K, Brlek P, Pavelić E, Molnar V, Matišić V, Erceg Ivkošić I, Parčina M (2022) Adaptive Immune Responses and Immunity to SARS-CoV-2. *Frontiers in immunology* 13:848582

184. Fleming N, Sacks LJ, Pham CT, Neoh SL, Ekinici EI (2021) An overview of COVID-19 in people with diabetes: Pathophysiology and considerations in the inpatient setting. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 38:e14509
185. Fedotkina O, Sulaieva O, Ozgumus T, et al (2021) Novel Reclassification of Adult Diabetes Is Useful to Distinguish Stages of β -Cell Function Linked to the Risk of Vascular Complications: The DOLCE Study From Northern Ukraine. *Frontiers in genetics* 12:637945
186. Turk Wensveen T, Gašparini D, Rahelić D, Wensveen FM (2021) Type 2 diabetes and viral infection; cause and effect of disease. *Diabetes research and clinical practice* 172:108637
187. Tsai S, Clemente-Casares X, Zhou AC, et al (2018) Insulin Receptor-Mediated Stimulation Boosts T Cell Immunity during Inflammation and Infection. *Cell metabolism* 28:922-934.e4
188. Šestan M, Marinović S, Kavazović I, et al (2018) Virus-Induced Interferon- γ Causes Insulin Resistance in Skeletal Muscle and Derails Glycemic Control in Obesity. *Immunity* 49:164-177.e6
189. Geerlings SE, Hoepelman AI. (1999) Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS immunology and medical microbiology* 26:259–265
190. Kumar NP, Sridhar R, Nair D, Banurekha V V., Nutman TB, Babu S (2015) Type 2 diabetes mellitus is associated with altered CD8(+) T and natural killer cell function in pulmonary tuberculosis. *Immunology* 144:677–686
191. Vigili de Kreutzenberg S (2023) Long COVID-19 and diabetes mellitus: a short review. *Metab Target Organ Damage* 2023;3:4 3:4
192. Li J, Zhou Y, Ma J, Zhang Q, Shao J, Liang S, Yu Y, Li W, Wang C (2023) The long-term health outcomes, pathophysiological mechanisms and multidisciplinary management of long COVID. *Signal transduction and targeted therapy* 8:416
193. Mehandru S, Merad M (2022) Pathological sequelae of long-haul COVID.

- Nature immunology 23:194–202
194. Sherif ZA, Gomez CR, Connors TJ, Henrich TJ, Reeves WB (2023) Pathogenic mechanisms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC). *eLife* 12:e86002
 195. Wensveen FM, Šestan M, Turk Wensveen T, Polić B (2019) “Beauty and the beast” in infection: How immune-endocrine interactions regulate systemic metabolism in the context of infection. *European journal of immunology* 49:982–995
 196. Randeria SN, Thomson GJA, Nell TA, Roberts T, Pretorius E (2019) Inflammatory cytokines in type 2 diabetes mellitus as facilitators of hypercoagulation and abnormal clot formation. *Cardiovascular diabetology* 18:72
 197. Liang Y, Huang P (2023) Associations of telomere length with risk of mortality from influenza and pneumonia in US adults: a prospective cohort study of NHANES 1999-2002. *Aging clinical and experimental research* 35:3115–3125
 198. Mahmoodpoor A, Sanaie S, Eskandari M, Behrouzi N, Taghizadeh M, Roudbari F, Emamalizadeh B, Sohrabifar N, Kazeminasab S (2023) Association between leukocyte telomere length and COVID-19 severity. *The Egyptian journal of medical human genetics* 24:37
 199. Sanchez-Vazquez R, Guío-Carrión A, Zapatero-Gaviria A, Martínez P, Blasco MA (2021) Shorter telomere lengths in patients with severe COVID-19 disease. *Aging* 13:1–15
 200. dos Santos GA, Pimenta R, Viana NI, et al (2021) Shorter leukocyte telomere length is associated with severity of COVID-19 infection. *Biochemistry and biophysics reports* 27:101056
 201. Wang Q, Codd V, Raisi-Estabragh Z, et al (2021) Shorter leukocyte telomere length is associated with adverse COVID-19 outcomes: A cohort study in UK Biobank. *EBioMedicine* 70:103485
 202. Jiang L, Tang BS, Guo JF, Li JC (2022) Telomere Length and COVID-19

- Outcomes: A Two-Sample Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Frontiers in genetics* 13:805903
203. Huang D, Lin S, He J, Wang Q, Zhan Y (2022) Association between COVID-19 and telomere length: A bidirectional Mendelian randomization study. *Journal of medical virology* 94:5345–5353
 204. Bernardinello N, Crestani B, Spagnolo P, et al (2023) Is telomere length a predictor of long-term survival in patients with COVID-19 pneumonia? *Respiratory medicine and research* 84:101048
 205. Retuerto M, Lledó A, Fernandez-Varas B, et al (2022) Shorter telomere length is associated with COVID-19 hospitalization and with persistence of radiographic lung abnormalities. *Immunity & ageing : I & A*. <https://doi.org/10.1186/S12979-022-00294-9>
 206. Cao X, Li W, Wang T, Ran D, Davalos V, Planas-Serra L, Pujol A, Esteller M, Wang X, Yu H (2022) Accelerated biological aging in COVID-19 patients. *Nature communications* 13:2135
 207. Jin H, Lu L, Fan H (2022) Global Trends and Research Hotspots in Long COVID: A Bibliometric Analysis. *International journal of environmental research and public health* 19:3742
 208. Krasnienkov DS, Gorodna O V., Kaminska TM, Podolskiy V V., Podolskiy V V., Nechyporenko M V., Antypkin YG, Livshits LA (2022) Analysis of Relative Average Length of Telomeres in Leukocytes of Women with COVID-19. *Cytology and genetics* 56:526–529
 209. Virseda-Berdices A, Concostrina-Martinez L, Martínez-González O, et al (2023) Relative telomere length impact on mortality of COVID-19: Sex differences. *Journal of medical virology* 95:e28368
 210. Ruiz A, Flores-Gonzalez J, Buendia-Roldan I, Chavez-Galan L (2021) Telomere Shortening and Its Association with Cell Dysfunction in Lung Diseases. *International journal of molecular sciences* 23:425
 211. Mulet A, González-Cabo P, Pallardó F V., Signes-Costa J (2024) Persistent Pulmonary Fibrotic Sequelae in Patients With Telomere Shortening One

- Year After Severe COVID-19. *Archivos de bronconeumologia* 60:62–64
212. Bergantini L, Baldassarri M, D'Alessandro M, et al (2023) Ultra-rare RTEL1 gene variants associate with acute severity of COVID-19 and evolution to pulmonary fibrosis as a specific long COVID disorder. *Respiratory research* 24:158
 213. Tsilingiris D, Tentolouris A, Eleftheriadou I, Tentolouris N (2020) Telomere length, epidemiology and pathogenesis of severe COVID-19. *European journal of clinical investigation* 50:e13376
 214. Valdiani A, Ofoghi H (2023) Enzymatic approaches against SARS-CoV-2 infection with an emphasis on the telomere-associated enzymes. *Biotechnology letters* 45:333–345
 215. Simões HG, Rosa TS, Sousa CV, Aguiar S da S, Motta-Santos D, Degens H, Korhonen MT, Campbell CSG (2020) Does Longer Leukocyte Telomere Length and Higher Physical Fitness Protect Master Athletes From Consequences of Coronavirus (SARS-CoV-2) Infection? *Frontiers in sports and active living* 2:87
 216. Merzon E, Green I, Shpigelman M, Vinker S, Raz I, Golan-Cohen A, Eldor R (2021) Haemoglobin A1c is a predictor of COVID-19 severity in patients with diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews* 37:e3398
 217. Belsky DW, Caspi A, Houts R, et al (2015) Quantification of biological aging in young adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:E4104–E4110
 218. Shoraka S, Mohebbi SR, Hosseini SM, Zali MR (2023) Comparison of plasma mitochondrial DNA copy number in asymptomatic and symptomatic COVID-19 patients. *Frontiers in microbiology* 14:1256042
 219. Boengler K, Heusch G, Schulz R (2011) Nuclear-encoded mitochondrial proteins and their role in cardioprotection. *Biochimica et biophysica acta* 1813:1286–1294
 220. Tan DX (2024) Mitochondrial dysfunction, a weakest link of network of aging, relation to innate intramitochondrial immunity of DNA recognition

- receptors. *Mitochondrion* 76:101886
221. Mangalhara KC, Shadel GS (2018) A Mitochondrial-Derived Peptide Exercises the Nuclear Option. *Cell metabolism* 28:330–331
 222. Pfanner N, Warscheid B, Wiedemann N (2019) Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks. *Nature reviews Molecular cell biology* 20:267–284
 223. Gatti P, Ilamathi HS, Todkar K, Germain M (2020) Mitochondria Targeted Viral Replication and Survival Strategies-Prospective on SARS-CoV-2. *Frontiers in pharmacology* 11:578599
 224. Wang Y, McLean AS (2022) The Role of Mitochondria in the Immune Response in Critical Illness. *Critical care (London, England)* 26:80
 225. Wimalawansa SJ (2019) Vitamin D deficiency: Effects on oxidative stress, epigenetics, gene regulation, and aging. *Biology* 8:30
 226. Barrea L, Verde L, Grant WB, et al (2022) Vitamin D: A Role Also in Long COVID-19? *Nutrients* 14:1625
 227. di Filippo L, Frara S, Nannipieri F, Cotellessa A, Locatelli M, Rovere Querini P, Giustina A (2023) Low Vitamin D Levels Are Associated With Long COVID Syndrome in COVID-19 Survivors. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 108:e1106–e1116
 228. Wood E, Hall KH, Tate W (2021) Role of mitochondria, oxidative stress and the response to antioxidants in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: A possible approach to SARS-CoV-2 “long-haulers”? *Chronic diseases and translational medicine* 7:14–26
 229. Singh I, Joseph P, Heerdt PM, Cullinan M, Lutchmansingh DD, Gulati M, Possick JD, Systrom DM, Waxman AB (2022) Persistent Exertional Intolerance After COVID-19: Insights From Invasive Cardiopulmonary Exercise Testing. *Chest* 161:54–63