

Роль системы комплемента в поражении почек у пациентов с COVID-19

✉ А.П. Бобков^{1, 2}, С.С. Стоянова^{2, 3}, Л.Я. Французевич^{1, 2, 4}, А.Н. Алёшина¹,
Е.А. Мершина^{2, 5}, Л.М. Самоходская², Т.Н. Краснова^{1, 2, 6},
В.Е. Силицын^{2, 5}, Е.П. Павликова^{1, 2}, А.А. Камалов^{2, 7}

¹ Кафедра внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

² Медицинский научный образовательный центр
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

³ Кафедра общей патологии Медико-биологического факультета
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский

медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, Москва

⁴ Кафедра пульмонологии ФДПО ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, Москва

⁵ Кафедра лучевой диагностики Факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО
«Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

⁶ Кафедра внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической
медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский университет)

⁷ Кафедра урологии и андрологии Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

Гипервоспалительные и гиперкоагуляционные состояния, характерные для течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19), способны активировать систему комплемента (СК). Почки, где отмечаются физиологически низкая концентрация регуляторов СК, постоянный контакт с различными антигенами и высокая экспрессия ангиотензинпревращающего фермента 2, — орган-мишень при развитии COVID-19. Наличие возможной связи между СК и поражением почек при COVID-19 делает перспективным изучение активности компонентов СК у больных с COVID-19 и поражением почек для поиска методов диагностики их специфического поражения и новых принципов терапии и профилактики тяжелого течения заболевания. Проведено обследование 400 стационарных пациентов с COVID-19. Подсчитана частота встречаемости мочевого синдрома (МС), высокой степени протеинурии (ВСПУ) с гипоальбуминемией, острого почечного повреждения (ОПП). В группах с МС в зависимости от наличия ОПП и в группах с разной тяжестью поражения легких и наличием/отсутствием ОПП проведено сравнение активности компонентов СК 3а, 4 и 5а, фактора Н (FCH) и фактора I. Обнаружено, что с увеличением объема поражения легких при COVID-19 достоверно чаще встречаются МС ($p < 0,05$) и ВСПУ с гипоальбуминемией ($p < 0,001$), при этом частота ОПП достоверно не зависит от тяжести поражения легких. В то же время у пациентов с ОПП независимо от наличия МС или тяжести поражения легких наблюдается достоверное снижение концентрации FCH в сыворотке крови. Таким образом, с увеличением тяжести поражения легких при COVID-19 возрастает и частота поражения почек (МС и ВСПУ с гипоальбуминемией), а развитие ОПП происходит на фоне чрезмерной активации СК — снижения концентрации FCH.

Ключевые слова: система комплемента, мочевого синдром, острое почечное повреждение, поражение почек, COVID-19.

Контактная информация: Бобков Александр Петрович, eue93@mail.ru

Введение

Прогноз у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) определяется не только тяжелым прогрессирующим поражением легких, но и развитием полиорганной симптоматики, в том числе поражением почек.

По данным Международного общества нефрологов, частота патологии почек у больных с тяжелым течением COVID-19 составляет 25–50% и эта патология проявляется, как правило, **мочевым синдромом** (МС), представленным **протеинурией** (ПУ) и **гематурией** (ГУ), или **острым почечным повреждением** (ОПП) [1].

Поражение почек с развитием ОПП может быть связано с прямым воздействием вируса, развитием **тромботической микроангиопатии** (ТМА), а также опосредованными реакциями вследствие “цитокинового шторма”, обусловленного избыточной активацией NF-κB пути, приводящей к синтезу провоспалительных цитокинов (**интерлейкин-1β** (ИЛ-1β), ИЛ-8, интерферон-γ, фактор некроза опухоли α и др.) [2]. Возможны также токсические эффекты лекарственных препаратов.

Среди патогенетических механизмов болезни, вызванной SARS-CoV-2, приоритетными считаются гипервоспалительные реакции и гиперкоагуляция — состояния, которые способны вызывать активацию **системы комплемента** (СК) и участвовать в патогенезе тяжелого течения COVID-19 [3, 4]. Активация альтернативного и лектинового путей СК сопряжена с повреждением эндотелиальных клеток с отложением в капиллярах легких и других органов **мембраноатакующих комплексов** (МАК) и компонента 4d и последующим высвобождением широкого спектра провоспалительных цитокинов и хемокинов, запускающих каскад воспалительных реакций и вызывающих ТМА.

Предполагается, что вирус напрямую или через поврежденные ткани активирует СК [5]. Так как в почках физиологически низкая концентрация регуляторов этой

системы дополняется постоянным контактом с различными антигенами вследствие выполнения фильтрационной функции, то почка, как и в случае с инфекциями SARS и MERS, является органом-мишенью при COVID-19 [6–10].

Доказательством прямого воздействия SARS-CoV-2 на почки является обнаружение с помощью электронной микроскопии сферических вирусоподобных частиц в эпителии проксимальных канальцев и подоцитах [11]. Кроме того, при выполнении иммуногистохимического исследования методом иммунофлюоресценции были обнаружены отложения нуклеокапсида и спайкового белка SARS-CoV-2 в проксимальных канальцах нефрона, где присутствует рецептор **ангиотензинпревращающего фермента 2** (АПФ2). Экспрессия АПФ2 в почках в 100 раз выше, чем в легких, что также делает их одной из основных целей SARS-CoV-2 [12]. Помимо щеточной каймы проксимальных почечных канальцев и поверхности подоцитов в почечной ткани фермент присутствует в клетках мезангия, париетальных клетках капсулы Боумена и собирательных трубочках [13].

Присоединение вируса к рецептору АПФ2 вызывает локальный дисбаланс ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в сторону эффектов ангиотензина II — субстрата АПФ2. Ангиотензин II оказывает провоспалительное и сосудосуживающее действие, что ведет к ишемии (усиливается экспрессия молекул гипоксического повреждения), инфильтрации моноцитами и тканевыми макрофагами тубулоинтерстиция почки, активации системы комплемента с отложением МАК в канальцах, что завершается пропитыванием пораженных тканей фибрином (фибриноидный некроз), и, наконец, ведет к дисфункции как клубочков, так и канальцев [9, 14].

Острое почечное повреждение значительно ухудшает прогноз COVID-19, приводя к высокой (в среднем 35–80% случаев) летальности у таких пациентов (особенно при развитии 2-й стадии ОПП и

выше), которая может достигать 75–90% у нуждающихся в заместительной почечной терапии (около 5% госпитальных больных COVID-19) [15, 16].

Патогенез ОПП у пациентов с COVID-19 до конца не установлен. Тубулярные расстройства описаны у 81,8% пациентов, случаи рабдомиолиза – у 18,2% [17]. М.М.В. Mohamed et al. сообщают об остром ишемическом повреждении канальцев и рабдомиолизе у 66 и 7% пациентов с COVID-19 соответственно. При этом у 13% больных авторы не обнаружили причины ОПП, кроме собственно наличия COVID-19 и, как следствие, цитопатического действия SARS-CoV-2 [18].

Рибонуклеиновая кислота коронавируса может быть выявлена в моче начиная с 6–7-го дня дебюта заболевания [19, 20]. Отмечено, что вирусная нагрузка в моче в среднем в 4 раза выше у пациентов с развитием острой почечной недостаточности, чем без нее. Среди других значимых факторов, влияющих на развитие ОПП, выделяют длительность искусственной вентиляции легких [21].

Таким образом, ОПП – часто встречающееся осложнение COVID-19, развитие которого значимо ассоциировано с тяжестью течения заболевания и увеличением смертности больных и которое на сегодняшний день не имеет специфического лечения [16].

Реализация каскада СК, способствующего раннему поражению легких при COVID-19, которая приводит к тромботической васкулопатии с выраженными отложениями терминального компонента СК (МАК), C4d и сериновой протеиназы-2, связанной с **маннозосвязывающим белком** (MASP2), является ключевым моментом развития ТМА в сосудах почек при тяжелом течении COVID-19 [9, 22]. Признаки васкулопатии с отложением компонентов СК (МАК, C4d и MASP2) при тяжелом течении COVID-19 обнаружены не только в почечной, но и в легочной ткани и коже [9, 22]. Предполагается, что компоненты СК C3a и C5a как активируют тромбоциты, так

и инициируют каскад коагуляции с генерацией тромбина с помощью различных механизмов, включая экспрессию тканевого тромбопластина, стимулированную моноцитами и эндотелиальными клетками [4].

Система комплемента – часть врожденного неспецифического иммунитета, представляет собой каскад реакций активации и распада около 30 белков в плазме крови. Традиционно считается, что СК участвует в иммунной реакции против бактериальных и грибковых клеток, патологически измененных и апоптотических клеток человека. Система комплемента может быть активирована 3 путями: опсонизированными антигенами в комплексах с иммуноглобулином G или M (классический путь), неопсонизированными антигенами (альтернативный путь), а также MASP2 и фиколином, способными узнавать углеводные паттерны клеточных стенок бактерий, грибов, поверхностей вирусных частиц и умирающих клеток (лектиновый путь).

У части больных COVID-19 наблюдается генетическая предрасположенность к поражению почек, которая связана с нарушением регуляции СК. В частности, известно, что относительная недостаточность белков-регуляторов СК на клетках проксимальных канальцев нефрона делает их более восприимчивыми к комплементопосредованному повреждению [23]. В исследовании V. Ramlall et al. было показано, что у носителей аллелей двух регуляторов СК: фактора ускорения распада комплемента (DAF или CD55) и **фактора Н** (FCH) – отмечается более высокая частота госпитализаций при COVID-19 [24]. Ранее была подтверждена связь данных аллелей с формированием атипичного гемолитико-уремического синдрома и возрастной макулярной дегенерации, обусловленных гаплонедостаточностью регуляторных белков СК [25].

Ингибиторы комплемента потенциально могут снижать частоту осложнений COVID-19, число пациентов, нуждающихся в интенсивной терапии, смертельных исходов, уменьшая воздействие на систему

здравоохранения [26]. В настоящее время проводится по меньшей мере 10 клинических испытаний ингибиторов комплементов, и они являются многообещающим инструментом для контроля тяжести течения COVID-19 [27].

Целью исследования явилось изучение активности компонентов СК у пациентов с COVID-19 с поражением почек.

Материал и методы

Произведен ретроспективный анализ историй болезни 400 пациентов, находившихся на лечении в Медицинском научно-образовательном центре МГУ им. М.В. Ломоносова с диагнозом COVID-19 с 21.04.2020 по 13.06.2020.

Всем больным проводилось стандартное клиничко-лабораторное обследование, необходимое для оценки тяжести инфекции COVID-19. В исследовании подсчитано количество пациентов с МС, ПУ $>0,3$ г/л, ГУ $>13,6$ клеток/мкл и/или лейкоцитурией (ЛУ) >14 клеток/мкл (т.е. со значениями выше соответствующих лабораторных норм), в том числе пациентов с **высокой степенью ПУ** (ВСПУ) (≥ 2 г/л) с гипоальбуминемией (<35 г/л).

Острое почечное повреждение устанавливалось согласно критериям Kidney Disease Improving Global Outcomes 2012 г.: повышение уровня креатинина сыворотки $>26,5$ мкмоль/л в течение 48 ч или повышение уровня креатинина в 1,5 раза и более в течение 7 дней по сравнению с референсными значениями [28].

Определение концентрации в сыворотке компонента **комплемента 4** (C4), **фактора I** (FCI), C3a, C5a и FCH методом иммуноферментного анализа (ELISA, Hycult Biotech, США) выполнено у 88 пациентов, в том числе у больных с признаками ОПП.

Для статистического анализа данных была использована программа SPSS Statistics версии 23.0 (IBM, США). Данные пациентов были проверены на нормальность распределения (для скалированных

величин) с помощью критерия Колмогорова—Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Поскольку подавляющее большинство количественных значений не имело нормального распределения, в сравнительной статистике нами использовались только непараметрические критерии.

Данные представлены в формате частоты встречаемости или медианы и межквартильного интервала (Me $[Q_1; Q_3]$). Для оценки частоты встречаемости применялся точный критерий Фишера, а для оценки скалированных величин — критерии Манна—Уитни или Крускала—Уоллиса.

Результаты

У пациентов с установленной при поступлении тяжестью вирусной пневмонии по результатам **мультиспиральной компьютерной томографии** (МСКТ) (стадии КТ-1, КТ-2, КТ-3 или КТ-4) и выполненным общим анализом мочи ($n = 276$) была оценена частота встречаемости МС. Мочевой синдром был выявлен у 139 больных (49,3%) и представлен ЛУ у 81 пациента (29,8%), ГУ — у 93 (34,2%), ПУ — у 99 (36,4%). Протеинурия высокой степени с гипоальбуминемией была обнаружена у 15 человек (5,5%). Признаки нарушения функции почек (ОПП) были обнаружены у 75 пациентов (27,2%). Подробные данные представлены в табл. 1.

По мере увеличения степени тяжести вирусной пневмонии по данным МСКТ с КТ-1—2 до КТ-3—4 достоверно возрастает частота поражения почек, проявляющегося как МС в различных его вариантах (ПУ, ГУ и/или ЛУ), так и ВСПУ с гипоальбуминемией.

В табл. 2 представлены результаты лабораторного исследования 5 компонентов СК сыворотки крови (C3a, C5a, C4, FCH и FCI) в группах больных с наличием МС с/без ОПП.

У пациентов с МС и ОПП выявлена статистически значимая более низкая концентрация FCH по сравнению с группой

Таблица 1. Частота поражения почек у больных в зависимости от тяжести поражения легких (n = 276)

Вариант поражения почек	Степень тяжести вирусной пневмонии по МСКТ		p*
	1-я или 2-я	3-я или 4-я	
ОПП	27,9% (62/222)	24,1% (13/54)	0,350
ПУ	32,0% (71/222)	56,0% (28/50)	0,001
ГУ	30,6% (68/222)	50,0% (25/50)	0,008
ЛУ	25,7% (57/222)	48,0% (24/50)	0,002
ВСПУ с гипоальбуминемией	1,8% (4/222)	22,0% (11/50)	<0,001

* Согласно одностороннему точному критерию Фишера.

Таблица 2. Активность компонентов СК у лиц с наличием МС с/без ОПП (n = 47)

Компонент СК	МС		p*
	без ОПП (n = 11)	с ОПП (n = 36)	
С3а, мг/л	2,06 [0,96; 4,60]	3,00 [1,75; 6,11]	0,175
С5а, мкг/л	17,5 [10,4; 34,9]	19,9 [10,7; 30,6]	0,841
С4, г/л	0,756 [0,130; 1,173]	0,141 [0,022; 0,679]	0,058
FCN, г/л	0,604 [0,536; 1,190]	0,289 [0,208; 0,592]	0,006
FCI, мг/л	20,8 [12,5; 26,0]	21,6 [16,9; 28,7]	0,372

* Согласно двустороннему критерию Манна–Уитни.

больных без ОПП. Следует отметить, что концентрацией FCN определяется устойчивость к комплементопосредованному повреждению, прежде всего в почках [23]: чем ниже концентрация FCN, тем больше предрасположенность к повреждению.

В табл. 3 показаны уровни компонентов СК у пациентов с различной тяжестью пневмонии с ОПП или без него.

Достоверное различие в проанализированных показателях СК было найдено для ее регулятора – FCN. При этом при попарном сравнении между группами достоверное различие во многом обусловлено наличием ОПП. Таким образом, развитие у пациентов ОПП независимо от тяжести пневмонии, оцененной по МСКТ, приводит к значимому снижению уровня FCN.

Обсуждение

Полученные нами данные отчасти согласуются со статистикой Международного общества нефрологов, по которой частота МС у пациентов с COVID-19 составляла 25–50% [1]. В нашем исследовании частота ПУ для всей когорты наблюдаемых пациентов (n = 276) составила 36,4%, а ГУ – 34,2%. Однако следует отметить, что Международное общество нефрологов оценивало только больных с тяжелым течением COVID-19 [1]. В нашем исследовании

Таблица 3. Активность компонентов СК у больных в зависимости от тяжести поражения легких с ОПП или без него (n = 88)

Компонент СК	Тяжесть вирусной пневмонии КТ-1–2		Тяжесть вирусной пневмонии КТ-3–4		p*
	без ОПП (n = 23)	с ОПП (n = 46)	без ОПП (n = 6)	с ОПП (n = 10)	
С3а, мг/л	4,47 [2,06; 4,60]	3,44 [2,09; 6,30]	3,34 [1,18; 4,74]	2,26 [0,77; 4,93]	0,599
С5а, мкг/л	21,5 [10,5; 46,3]	18,3 [11,6; 29,4]	14,0 [5,2; 52,2]	21,9 [10,3; 64,7]	0,846
С4, г/л	0,679 [0,052; 3,821]	0,141 [0,025; 0,689]	0,844 [0,100; 2,437]	0,314 [0,065; 0,893]	0,116
FCN, г/л	0,687 [0,284; 6,455]	0,281 [0,210; 0,487]	0,746 [0,483; 6,166]	0,263 [0,204; 2,064]	0,005**
FCI, мг/л	24,9 [22,8; 27,2]	23,0 [15,7; 28,6]	24,1 [11,7; 36,0]	20,6 [17,4; 32,9]	0,802

* Согласно критерию Крускала–Уоллиса.

** В попарном сравнении групп согласно критерию Манна–Уитни различие в результатах статистически значимо между пациентами с вирусной пневмонией КТ-1–2 с ОПП и КТ-1–2 без ОПП (p = 0,002) и пациентами с вирусной пневмонией КТ-1–2 с ОПП и КТ-3–4 без ОПП (p = 0,02).

часть госпитализированных пациентов при поступлении имела среднетяжелое течение заболевания. Возможно, поэтому в проведенном исследовании частота ОПП была несколько выше (27,2%), чем по данным Международного общества нефрологов (<15% случаев) [1].

Интересно, что выявленное у госпитализированных больных COVID-19 снижение концентрации FCH при развитии ОПП отчасти может быть связано с аллелями гена FCH, предрасполагающими к недостаточности этого регулятора СК.

По данным зарубежных исследований, у пациентов с COVID-19 отмечается повышение уровня компонентов СК С3а и С5а. Так, уровень С3а был выше у больных, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии, по отношению к пациентам линейного отделения [29, 30]. В свою очередь, повышение уровня С5а наблюдается у пациентов с тяжелым течением COVID-19, а его более высокие концентрации ассоциированы с наличием дыхательной недостаточности и системного воспаления [31, 32]. Наше исследование не может подтвердить эти выводы, поскольку в нем не сравнивались подобные группы пациентов с COVID-19, однако дополняет имеющуюся информацию тем наблюдением, что тяжесть поражения легких при COVID-19 не влияет достоверно на концентрацию С3а и С5а. Тем не менее данный вывод не свидетельствует об отсутствии роли СК в патогенезе COVID-19, описывая только феномен индифферентности концентраций отдельных компонентов СК в прогрессировании поражения легких.

К настоящему времени было проведено 2 исследования (*in vitro*), в которых оценивалось влияние FCH на СК при COVID-19 [33, 34]. В модели на клетках-мишенях показана прямая активация альтернативного пути СК спайковым белком SARS-CoV-2 (субъединицами 1 и 2) [33]. При этом добавление FCH к модельной среде приводило к ингибированию комплементопосредованного повреждения: отмечалось умень-

шение содержания С3с-компонента СК и МАК, осажденных на клетках-мишенях, и концентрации фактора Bb СК в супернатанте [33].

Еще в одной модели использование мини-FCH¹ в качестве ингибитора активации СК приводило к снижению секреции ИЛ-6 и значительной стимуляции продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10, что, по заключению авторов, подразумевает как антигипервоспалительное, так и прямое противовоспалительное воздействие мини-FCH [34]. G.T. Kozma et al. не исключают, что мини-FCH может быть потенциально полезен в клиническом применении у пациентов с COVID-19 для терапии или профилактики цитокинового шторма [34].

Выводы

Частота поражения почек возрастает по мере увеличения тяжести вирусной пневмонии: чаще встречается МС, представленный ПУ, ЛУ и/или ГУ и ВСПУ с гипоальбуминемией. Однако частота встречаемости ОПП не зависит от тяжести вирусной пневмонии (КТ-1–2 и КТ-3–4).

У пациентов с ОПП снижается концентрация FCH независимо от МС и тяжести поражения легких при COVID-19, что свидетельствует об участии СК в развитии ОПП.

Заключение

Результаты нашего исследования подтверждают и существенно дополняют данные литературы об активации СК у пациентов с поражением почек на фоне COVID-19, а также согласуются с выводами о потенциале практического использования антикомплемментарной терапии (например, мини-FCH) у пациентов с тяжелым течением COVID-19.

¹ Полипептид (≈60 аминокислотных остатков), состоящий из 4 N-концевых и 2 C-концевых коротких последовательных повторов FCH, впервые обнаруженный в клетках насекомых [34].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Исследовательская работа выполнена в рамках госзадания МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова “Разработка методов диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции на разных этапах разви-

тия болезни” № 0908.002, номер ЦИТИС (Центр информационных технологий и систем органов исполнительной власти) 121061800142-0.

*Со списком литературы вы можете
ознакомиться на нашем сайте
www.atmosphere-ph.ru*

The Role of the Complement System in Kidney Injury in COVID-19 Patients

A.P. Bobkov, S.S. Stoyanova, L.Ya. Frantsuzovich, A.N. Aleshina, E.A. Merzhina, L.M. Samokhodskaya, T.N. Krasnova, V.E. Sinitsyn, E.P. Pavlikova, and A.A. Kamalov

Hyperinflammation and hypercoagulation, which are typical for the novel coronavirus disease (COVID-19), are capable of activating the complement system (CS). The kidneys are characterized by low physiological concentrations of CS regulators, constant interaction with various antigens, and high expression of angiotensin-converting enzyme 2, therefore they present as target organs in the COVID-19 course. A possible link between CS and kidney injury in COVID-19 patients makes studying the CS components activity in patients with COVID-19 and kidney injury a promising tool for the search of specific diagnostic tests in kidney injury and novel methods of treatment and prevention of the severe disease course. The study included 400 patients hospitalized with COVID-19. The incidence of abnormal urinalysis results (AU), marked proteinuria (MP) with hypoalbuminemia, and acute kidney injury (AKI) was calculated. The activity of CS components (3a, 4 and 5a, factor H (FH) and factor I) was compared between patient groups with AU, depending on the presence of AKI, and groups with lung damage of varying severity, with or without AKI. It was found that in parallel with the increase in lung damage volume in COVID-19 both AU ($p < 0.05$) and MP with hypoalbuminemia ($p < 0.001$) become significantly more prevalent, while AKI prevalence does not depend on the severity of lung damage. At the same time, for patients with AKI, regardless of the presence of AU or lung damage severity, there was a statistically significant decrease in the serum concentration of FH. Thus, along with the increase in the severity of lung damage in COVID-19, the prevalence of kidney injury (AU and MP with hypoalbuminemia) also increases, while AKI occurs against the background of excessive activation of CS and a decrease in FH levels.

Key words: complement system, abnormal urinalysis, acute kidney injury, kidney damage, COVID-19.