

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН**  
**Факултет Медицина**  
**Катедра „Кардиология, Пулмология и Ендокринология“**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**Д-р Виктория Цветанова Цветкова**

**Промени в панкреасната бета-клетъчна функция при  
Ковид-19**

**Дисертационен труд**  
**за присъждане на образователна и научна степен**  
**«ДОКТОР»**

**Научен ръководител: Доц. д-р Катя Тодорова д.м.**

**Плевен, 2026 г.**

Дисертационният труд съдържа 505 машинописно написани страници и е онагледен с 165 фигури и 144 таблици. Библиографията обхваща 463 литературни източника, от които 4 са на кирилица и 459 на латиница.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 19 май 2026 г. от 13:00 часа в зала „Амброаз Парев“, МУ-Плевен. Материалите по защитата са на разположение на сайта на МУ-Плевен: [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg)

## Съдържание

|   |         |
|---|---------|
| Използвани съкращения.....  | стр. 4  |
| Въведение.....  | стр. 6  |
| Цел на изследването.....  | стр. 7  |
| Задачи на изследването.....   | стр. 7  |
| Научна идея/ Работна хипотеза.....                                  | стр. 8  |
| Материали и методи.....   | стр. 8  |
| Дизайн на изследването.....   | стр. 8  |
| Изследвани групи.....   | стр. 8  |
| Критерии за подбор и стратификация.....                             | стр. 9  |
| Методи на изследване.....   | стр. 10 |
| Оценка качеството на живот.....                                     | стр. 11 |
| Статистическа обработка на данните.....                             | стр. 11 |
| Етични съображения.....   | стр. 13 |
| Резултати.....  | стр. 13 |
| Обсъждане.....  | стр. 71 |
| Изводи.....   | стр. 89 |
| Приноси.....  | стр. 90 |
| Ограничения на изследването.....                                    | стр. 91 |
| Списък на публикации и участия, свързани с дисертационния труд..... | стр. 92 |

## Използвани съкращения

- ВХ** – Въглехидратен (–на, –но)
- ЗД** – Захарен диабет
- ИР** – Инсулинова резистентност
- ИТМ** – Индекс на телесна маса
- КЗ** – Кръвна захар
- МС** – Метаболитен синдром
- НГГ** – Нарушена гликемия на гладно
- НГТ** – Нарушен глюкозен толеранс
- ОГТТ** – Орален глюкозотолерантен тест
- ТГ** – Триглицериди
- 8-epi-PGF2 $\alpha$**  - 8-Epi-Prostaglandin F2 $\alpha$  (8-епи простагландин F2 $\alpha$ )
- АЛАТ** – Аланин аминотрансфераза (АЛАТ)
- ARDS** – Остър респираторен дистрес синдром
- АСАТ** – Аспартат аминотрансфераза (АСАТ)
- CD4** – Cluster of Differentiation 4
- CD8** – Cluster of Differentiation 8
- CRP** – C-reactive protein (C-реактивен протеин)
- GGT** – Гама-глутамил трансфераза (ГГТ)
- GLM (Gamma, log link)** – обобщен линеен модел с гама-разпределение и логаритмична
- GLP-1** – Glucagon-like peptide-1 (Глюкагон-подобен пептид-1) връзкова функция
- GP-73** – Golgi protein-73 (Голджи протеин-73)
- НbA1c** – Гликиран хемоглобин
- HCF-D** – Human complement factor D (Комплементарен фактор D)
- HDL-C** – HDL-холестерол
- HIF-1 $\alpha$**  – Hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  (индуцируем от хипоксия фактор 1 $\alpha$ )
- НОМА-B** – Homeostasis model assessment of beta-cell function
- НОМА-IR** – Homeostasis model assessment of insulin resistance
- IL** – Interleukin (Интерлевкин)
- IFN- $\gamma$**  – Interferon- $\gamma$  (Интерферон-гама)

**LADA** – Latent Autoimmune Diabetes in Adults

**LDL-C** – LDL-холестерол

**MAFLD** – Метаболитно-асоциирана мастна чернодробна болест

**METS-IR** – Metabolic Score for Insulin Resistance

**NFE2L2** – Nuclear Factor, Erythroid Derived 2 Like 2

**PCR** – Polymerase chain reaction (полимеразна верижна реакция)

**TNF- $\alpha$**  – Tumor necrosis factor- $\alpha$  (Тумор некротичен фактор-алфа)

**TyG index** – Триглицеридно-глюкозен индекс

**QUICKI** – Quantitative Insulin Sensitivity Check Index

## ВЪВЕДЕНИЕ

Коронавирусната болест 2019 (COVID-19), причинена от SARS-CoV-2, първоначално се разглеждаше предимно като остра респираторна инфекция, но натрупаните през последните години клинични и експериментални данни убедително показват, че заболяването има изразен системен характер, с дълбоки и продължителни последици върху метаболитната и ендокринната хомеостаза. Особен научен интерес предизвиква нарастващият брой наблюдения за хипергликемия, инсулинова резистентност (ИР) и нововъзникнали нарушения във въглехидратната (ВХ) обмяна, регистрирани както по време на острата инфекция, така и в пост-COVID периода.

Натрупват се доказателства, че SARS-CoV-2 инфекцията може да засягне панкреасната  $\beta$ -клетъчна функция чрез комплекс от директни и индиректни механизми, включващи вирусно-медирано клетъчно увреждане, имунно възпаление, оксидативен стрес, клетъчна хипоксия и нарушения в инсулиновата сигнализация. Експериментални и хистопатологични проучвания демонстрират промени в инсулиновата секреция, нарушена протеолитична обработка на проинсулина, както и морфологични белези на  $\beta$ -клетъчен стрес, което допълнително подкрепя хипотезата за директно участие на вируса в дисрегулацията на глюкозната хомеостаза.

Паралелно с това, ИР се очертава като доминиращ метаболитен дефект в хода на COVID-19, включително при лица без предшестващ захарен диабет (ЗД). Острият възпалително-метаболитен стрес, съчетан с адипоцитна дисфункция, промени в липидния метаболизъм и активация на клетъчно-медирания имуноен отговор, създава условия за развитие на преходни или персистиращи метаболитни нарушения. В този контекст се формира концепцията за COVID-19 като имунометаболитен тригер, способен да отключи или ускори патологични процеси, водещи до ЗД и други нарушения във ВХ обмяна.

Въпреки нарастващия обем от международни данни, механизмите, динамиката и клиничното значение на тези нарушения остават непълно изяснени, особено по отношение на фазово-зависимите промени между острата инфекция и пост-COVID периода. Липсват и достатъчно проучвания, които едновременно да оценяват  $\beta$ -клетъчната функция, инсулиновата чувствителност и имунометаболитните взаимодействия в рамките на една и съща кохорта, използвайки комбиниран подход от клинични, биохимични и имунологични показатели.

На този фон настоящият дисертационен труд е насочен към комплексна оценка на връзката между SARS-CoV-2 инфекцията,  $\beta$ -клетъчната функция и ИР, като анализира промените в глюкозната хомеостаза в острата и пост-COVID фазата и ги съпоставя с контролна група от лица с Метаболитен синдром (МС). Подобен подход позволява прецизно разграничаване на инфекциозно-индуцираните метаболитни нарушения от тези, обусловени от хроничен метаболитен риск, и допринася за по-доброто разбиране на имунометаболитния континуум, асоцииран с COVID-19.

### **ЦЕЛ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

Целта на изследването е да се оцени влиянието на SARS-CoV-2 инфекцията върху  $\beta$ -клетъчната функция и инсулиновата чувствителност в острата и пост-COVID фазата, в контекста на имунометаболитните взаимодействия, свързани с нарушенията във ВХ обмяна.

### **ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

1. Да се извърши обща клинична и метаболитна характеристика на изследваната популация.
2. Да се изследват липидният профил и други ключови метаболитни показатели, както и състоянието на чернодробната функция, в различните фази на инфекцията.
3. Да се анализира възпалителният и имунният статус, включително участието на про- и антиинфламаторни цитокини, и други маркери на имунно възпаление в острата и пост-COVID фазата и тяхната роля в метаболитната дисрегулация.
4. Да се проучи ролята на оксидативния стрес, антиоксидантната защита и вирус-индуцираната клетъчна хипоксия в патофизиологията на нарушенията в глюкозния метаболизъм и  $\beta$ -клетъчната функция.
5. Да се оцени глюкозната хомеостаза в острата фаза на COVID-19 и в безсимптомния пост-COVID период, чрез анализ на панкреасната  $\alpha$ - и  $\beta$ -клетъчна функция, инсулиновата секреция и инсулиновата чувствителност.
6. Да се оцени участието на адипоцитокени и други хормонално активни молекули в генезата на COVID-19-асоциираната дисгликемия.
7. Да се анализират рисковите фактори, асоциирани с развитието на нововъзникнал ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция.

8. Да се оцени качеството на живот при лицата, преболели COVID-19, чрез използване на валидиран въпросник (SF-36).

### **НАУЧНА ИДЕЯ / РАБОТНА ХИПОТЕЗА**

SARS-CoV-2 инфекцията може да действа като имунометаболитен тригер, който чрез комплексни възпалителни, хипоксични и метаболитни механизми допринася за развитието на нарушения в глюкозната хомеостаза и нововъзникнал ЗД.

### **МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

#### **Дизайн на изследването**

Настоящото изследване представлява комплексно клинично и лабораторно проучване, проведено в периода 2021–2023 г., насочено към оценка на промените в глюкозната хомеостаза,  $\beta$ -клетъчната функция и инсулиновата чувствителност при пациенти със SARS-CoV-2 инфекция в острата и пост-COVID фазата, в сравнение с референтна група лица с МС.

#### **Изследвани групи**

В изследването са включени общо 235 лица, разпределени в следните групи:

#### **Основна изследвана популация:**

**Група 1** – лица с активна SARS-CoV-2 инфекция, диагностицирана чрез PCR-тест, изследвани в острата фаза на заболяването ( $n = 32$ );

**Група 2** – лица, преболели COVID-19, с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна, диагностицирани в безсимптомния пост-COVID период ( $n = 35$ );

**Група 3** – неболели от SARS-CoV-2 инфекция лица с характеристиките на МС, включени като референтна група ( $n = 33$ );

#### **Допълнително изследвана популация:**

**Група 4** – хоспитализирани пациенти с активна SARS-CoV-2 инфекция ( $n = 135$ ), проследени динамично (надлъжно) по време на хоспитализацията. При тях са анализирани клиничната тежест на инфекцията, възпалителните и коагулационните показатели, както и динамиката на гликемичния контрол (включително вариации в кръвната захар и необходимост от инсулиново лечение). Тази кохорта позволява оценка на гликемичната динамика и метаболитните промени в хода на острата инфекция. Наред

с вътрешногруповия анализ, данните от група 4 са използвани и в междугрупови сравнения при определени показатели (напр. липиден профил, пикочна киселина и възпалителни маркери), когато това е методологично обосновано.

Използването на референтна група с МС позволява разграничаване на инфекциозно-индуцираните имунометаболитни промени от вече установени хронични метаболитни нарушения.

### **Критерии за подбор и стратификация**

Подборът на участниците е извършен въз основа на предварително дефинирани включващи и изключващи критерии, подробно описани в дисертационния труд.

#### **Включващи критерии:**

- възраст  $\geq 18$  години;
- активна SARS-CoV-2 инфекция, потвърдена с PCR-тест (Група 1 и 4);
- анамнеза за прекарана PCR-потвърдена инфекция с период  $\geq 6$  месеца след острата фаза (Група 2);
- нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна след прекарана SARS-CoV-2 инфекция при анамнеза за нормална гликемия преди заболяването (Група 2);
- лица с МС, дефиниран съгласно хармонизираните критерии (наличие на  $\geq 3$  от 5 компонента), с отрицателен PCR-тест за SARS-CoV-2 и без анамнестични, клинични или серологични данни (когато са налични) за предшестваща инфекция (Група 3).

#### **Изключващи критерии:**

- възраст под 18 години или над 90 години;
- бременност или кърмене;
- лица със ЗД тип 1 или тип 2, диагностициран преди COVID-19 (за Група 2);
- проведена имунизация срещу SARS-CoV-2 (за Група 1);
- известни автоимунни заболявания;
- налични тежки декомпенсирани сърдечно-съдови, респираторни, гастроинтестинални, бъбречни или активни онкологични заболявания;
- прием на биологична терапия, имуносупресори, цитостатици или системни глюкокортикоиди в клинично значими дози в предходните 12 месеца,

включително лечение с  $\geq 0.5\text{--}1.0$  mg/kg/ден метилпреднизолон (или еквивалент) за  $>10$  дни.

Класификацията на ВХ нарушения е извършена съгласно критериите на СЗО и ADA, въз основа на стойностите на глюкоза на гладно, HbA1c и данни от орален глюкозотолерантен тест (ОГТТ), когато приложимо. Лицата от групи 2 и 3 са допълнително стратифицирани в подгрупи според типа установено нарушение (ЗД тип 1, ЗД тип 2, нарушена гликемия на гладно (НГГ), нарушен глюкозен толеранс (НГТ), ИР с нормогликемия).

### Методи на изследване

Проведени са клинични, антропометрични и лабораторни изследвания, включващи:

- показатели на глюкозната хомеостаза и липидния профил;
- хормонални маркери на панкреасната  $\alpha$ - и  $\beta$ -клетъчна функция (инсулин, С-пептид, проинсулин, глюкагон);
- възпалителни и имунологични маркери, включително про- и антиинфламаторни цитокини (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-7, IL-10, IL-17A), показатели на клетъчно-медиация имунитет (CD4, CD8) и системата на комплемента (HCF-D);
- маркери на оксидативен стрес (8-Epi-PGF2 $\alpha$ ), антиоксидантна защита (NFE2L2) и клетъчна хипоксия (HIF-1 $\alpha$ );
- адипокини (лептин, адипонектин), инкретинови хормони (GLP-1) и други биомолекули с глюкорегулаторна роля (GP-73).

Специализираните хормонални, имунологични и оксидативно-стресови показатели бяха определяни чрез валидирани имуноаналитични методи – електрохемилюминисцентен имуноанализ (ECLIA) и ензим-свързан имуносорбентен анализ (ELISA), съобразно методологията на съответните тестове.

Венозните кръвни проби за метаболитен и имунологичен анализ са вземани при постъпване и преди започване на лечение с глюкокортикостероиди, антибиотици, антикоагуланти и кислородотерапия, когато клиничното състояние е позволявало това. Поради тежестта на заболяването индексът на телесна маса (ИТМ) не е определян при лицата с активна инфекция (Групи 1 и 4), което ограничава оценката на нутритивния статус в тези групи.

## Оценка на $\beta$ -клетъчната функция

За комплексна оценка на  $\beta$ -клетъчния функционален статус са използвани допълващи се сурогатни индекси, отразяващи различни аспекти на  $\beta$ -клетъчната адаптация и дисфункция:

- **НОМА-В** – индекс за оценка на секреторния капацитет на  $\beta$ -клетките;
- Съотношение **C-peptide/glucose (C-пептид/глюкоза)** – маркер за ефективността на инсулиновата секреция спрямо гликемичния товар;
- Съотношение **Insulin/Proinsulin (инсулин/проинсулин)** – показател за ефективността на протеолитичната обработка на проинсулина;
- Съотношение **Proinsulin/C-peptide (проинсулин/C-пептид)** – маркер за  $\beta$ -клетъчен стрес и нарушен инсулинов процесинг.

Комбинираното приложение на тези индекси позволява разграничаване между компенсаторна хиперсекреция, нарушена хормонална обработка и изразена инсулинопения.

## Оценка на ИР и функционалното състояние на мастната тъкан

ИР е оценена чрез прилагане на инсулин-базирани и неинсулин-базирани сурогатни индекси, включително **НОМА-IR, QUICKI, TyG index, съотношение TG/HDL-C и METS-IR**, с цел по-прецизна характеристика на различните аспекти на периферната и хепаталната ИР.

Функционалното състояние на мастната тъкан и адипокиновият баланс са оценени чрез **съотношението Adiponectin/Leptin**, използвано като интегративен индекс за адипоцитна функция и инсулинова чувствителност.

## Оценка на качеството на живот

Качеството на живот при лицата, преболедували COVID-19, е оценено чрез официалната българска версия на валидирания въпросник SF-36, включващ физически и психоемоционални домейни.

## Статистическа обработка на данните

Статистическата обработка на резултатите е извършена в Медицински център по здравна информация с помощта на статистическия пакет SPSS Statistics for Windows, версия 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Количествените променливи са описани чрез средна стойност (Mean) и стандартно отклонение (SD), както и чрез медиана (Median) и междуквартилен размах (IQR).

Нормалността на разпределението на количествените променливи е оценявана чрез тестовете на Kolmogorov–Smirnov и Shapiro–Wilk. Поради установено отклонение от нормалното разпределение при поне една от групите за всяка изследвана променлива, за междугруповите сравнения са използвани непараметрични статистически методи.

За сравнение между три или повече независими групи е прилаган Kruskal–Wallis тест, като при установяване на статистически значима разлика е извършван пост-хок анализ с Mann–Whitney U тест, с Bonferroni-корекция. За статистически значими са приемани различия при  $p < 0.05$ . При сравнение между три групи за статистически значими са приемани стойности  $p < 0.0167$  ( $0.05/3$ ).

С оглед на изразената асиметрия и дясно-скосеното разпределение на изследваните показатели, междугруповите разлики са анализирани допълнително чрез обобщени линейни модели (Generalized Linear Models, GLM) с Gamma разпределение и логаритмична функция на връзката (log link function), подходящи за положително дефинирани и асиметрично разпределени променливи. Моделите са коригирани за възраст и пол, като референтна категория е използвана COVID-негативната група с МС. Поради липса на надеждни данни за ИТМ при пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция, ИТМ не е включван като ковариат в регресионните модели.

Проведени са допълнителни сравнителни анализи по пол и по диабетен статус във всяка от групите. За статистически значими са приемани стойности  $p < 0.05$ .

Извършен е също и междуподгрупов анализ, включващ сравнение между диабетици и недиабетици от трите основни групи, като и в този случай е прилагана Bonferroni-корекция ( $p < 0.0167$ ).

Лицата от група 2 са допълнително стратифицирани в подгрупи според типа ВХ нарушение (ЗД тип 1, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и нормогликемия с ИР). За анализ на разликите между подгрупите е използван Kruskal–Wallis тест, последван от Mann–Whitney U тест с Bonferroni-корекция, като за статистически значими са приемани стойности  $p < 0.0083$  ( $0.05/6$ ). Поради малкия брой лица в подгрупите с НГГ и НГТ, същите са обединени в обща подгрупа „предиабет“ при междуподгруповите сравнения, с цел повишаване на статистическата надеждност на анализа.

Корелационният анализ е извършен чрез непараметричния коефициент на Spearman, за оценка на връзките между метаболитни, биохимични и имунологични показатели, като за статистически значими са приемани корелации при  $p < 0.05$ .

Допълнително е проведен ROC анализ (Receiver Operating Characteristic) с цел оценка на дискриминационната способност на изследваните показатели и индекси и определяне на праговите стойности (cut-off), асоциирани с повишен риск от ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция.

### **Етични съображения**

Проучването е проведено в съответствие с етичните принципи на Декларацията от Хелзинки. Всички участници са включени доброволно след подписано писмено информирано съгласие, след подробно запознаване с целите и характера на изследването.

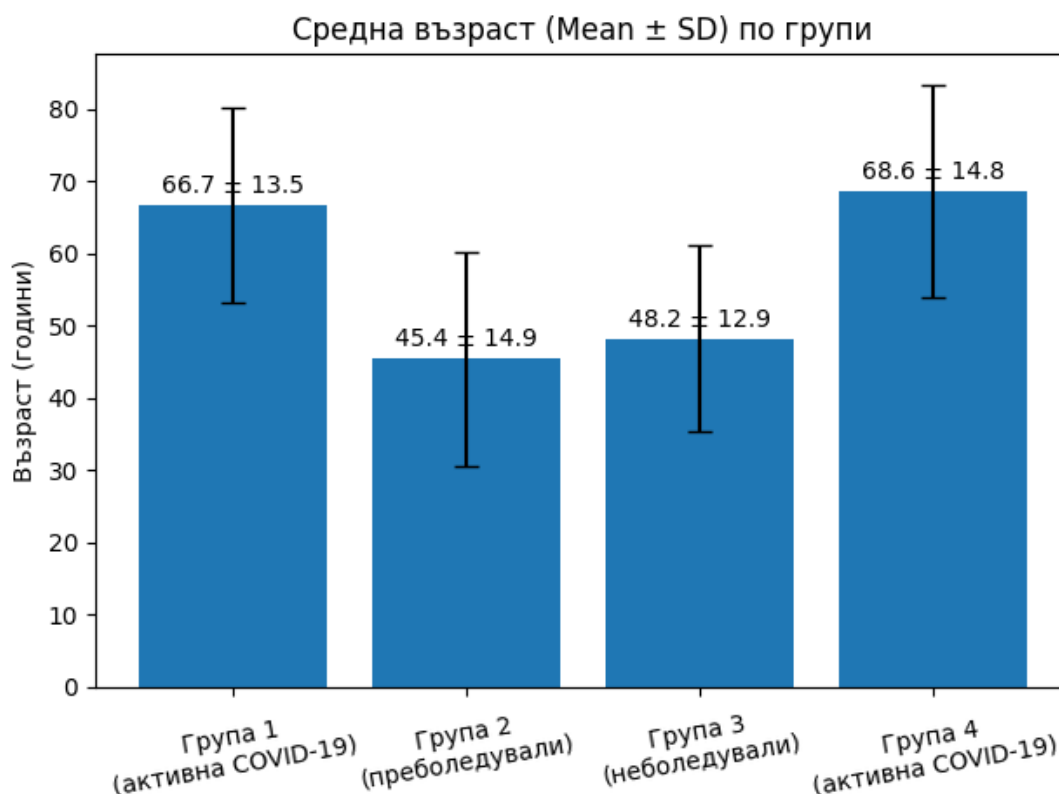
Участниците от групи 1–3 са включени проспективно в рамките на научен проект № D6/2023, одобрен от Комисията по етика към Медицински университет – Плевен (Протокол № 72/05.06.2023 г.). Лицата от група 4 са проследявани проспективно въз основа на разширено информирано съгласие за използване на клинични и лабораторни данни от болничната документация за научни цели, без провеждане на допълнителни изследователски интервенции извън рутинната клинична практика. Гарантирана е пълна конфиденциалност и използване на анонимизирани данни, без възможност за индивидуална идентификация.

## **РЕЗУЛТАТИ**

### **1. Обща клинична и метаболитна характеристика на изследваната популация**

#### **1.1. Обща клинична характеристика на изследваната популация**

Средната възраст на лицата се различава значимо между групите (Kruskal–Wallis  $H(2) = 29.880$ ;  $p < 0.001$ ), като пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1) са съществено по-възрастни в сравнение с преболедувалите (Група 2) (Mann–Whitney  $U = 153.5$ ;  $p < 0.01$ ) и референтната група с МС (Група 3) (Mann–Whitney  $U = 175.5$ ;  $p < 0.01$ ) (Фиг. 1).

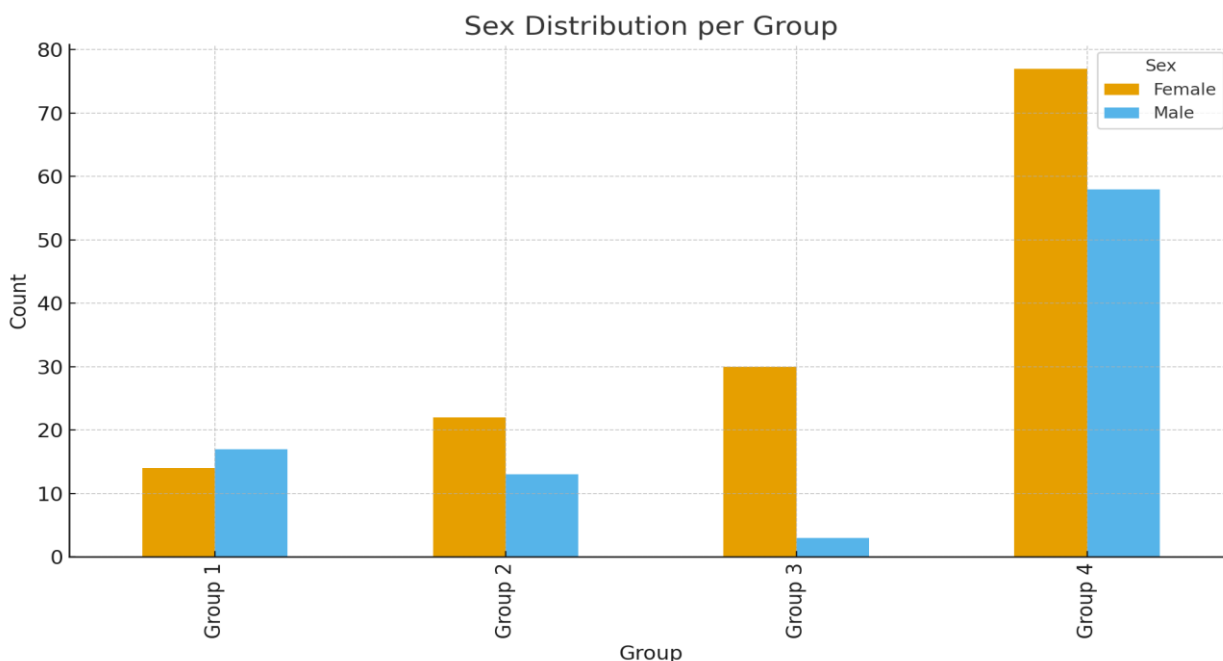


**Фиг. 1.** Средна възраст на лицата от изследваните групи - Група 1 ( $n = 32$ ); Група 2 ( $n = 35$ ); Група 3 (референтна група;  $n = 33$ ) и Група 4 ( $n = 135$ ).

Надлъжно проследяваната кохорта с активна инфекция (Група 4) демонстрира сходна възраст с Група 1 ( $p > 0.05$ ), но е значимо по-възрастна спрямо Групи 2 и 3 (Kruskal–Wallis  $H(2) = 73.39$ ;  $p < 0.001$ ). Корелационният анализ установи статистически значими взаимовръзки между възрастта и НIF-1 $\alpha$  и в трите групи (Група 1:  $r_s = 0.521$ ;  $p = 0.004$ ; Група 2:  $r_s = 0.433$ ;  $p = 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.640$ ;  $p < 0.001$ ).

В цялата изследвана популация ( $n = 235$ ) жените преобладават (60.85% спрямо 39.15% мъже) (Фиг. 2). В основната изследвана кохорта ( $n = 100$ ) жените са 66%, а мъжете – 34%. По групи, женският пол доминира при преболедувалите лица (Група 2 – 62.85%), при неболедувалите с МС (Група 3 – 90.90%) и в надлъжно проследяваната кохорта с активна инфекция (Група 4 – 57%), докато при лицата с активната инфекция (Група 1) се наблюдава относително по-висок дял на мъжете (56.25%).

Разпределението по пол между групите е статистически значимо ( $\chi^2 = 16.64$ ;  $p < 0.001$ ).



**Фиг. 2. Разпределение по пол на изследваните пациенти от всяка група**

Фамилна анамнеза за ЗД е установена при 33.62% от всички изследвани лица, като честотата ѝ е по-висока при преболедевалите с нововъзникнали ВХ нарушения (40%) и при неболедевалите с МС (45.45%) в сравнение с лицата с активна инфекция (Група 1 - 21.88% и Група 4 - 31.85%).

По отношение на демографския статус, преобладава градското население (70.2%), като разпределението по групи е сходно и без съществени различия. Делът на активните пушачи в основната изследвана популация е 25%, като не се установяват съществени различия между групите.

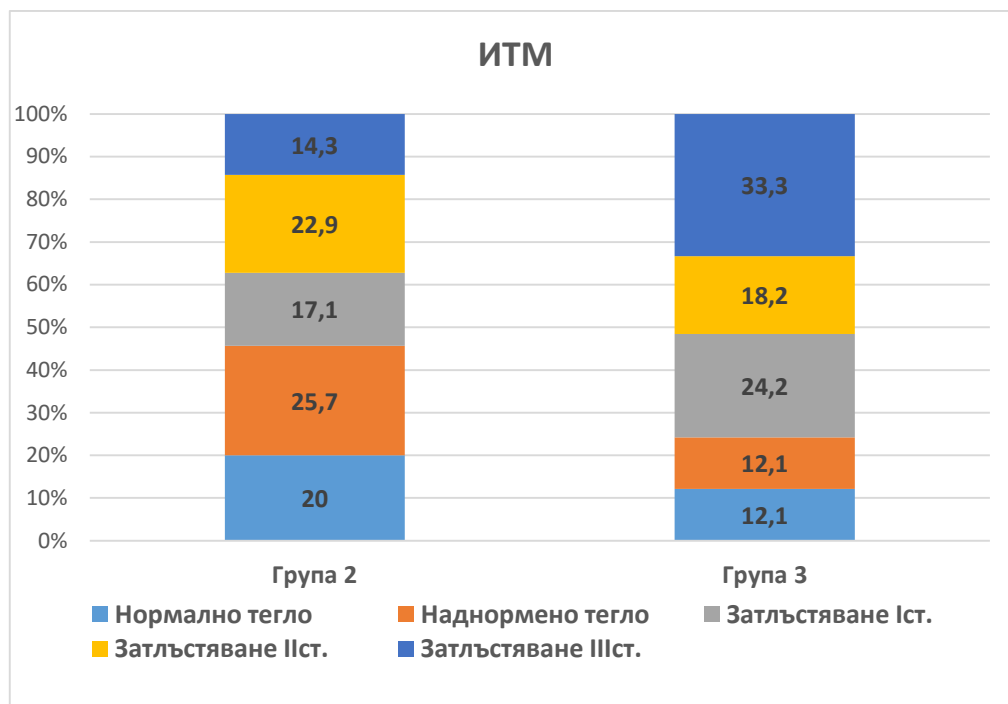
### **1.2. Метаболитна характеристика на изследваната популация**

**ИТМ** е анализиран при преболедевалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна (Група 2) и при неболедевалите лица с МС (Група 3).

Средният ИТМ в Група 2 е  $31.91 \pm 2.57 \text{ kg/m}^2$  (Med = 32.0; IQR = 10.0), като 54.3% от лицата са със затлъстяване.

В Група 3 средният ИТМ е по-висок –  $35.67 \pm 7.89 \text{ kg/m}^2$  (Med = 35.0; IQR = 11.0), а делът на затлъстяването достига 75.7%, включително 33.3% от лицата са с морбидно затлъстяване (Фиг. 3).

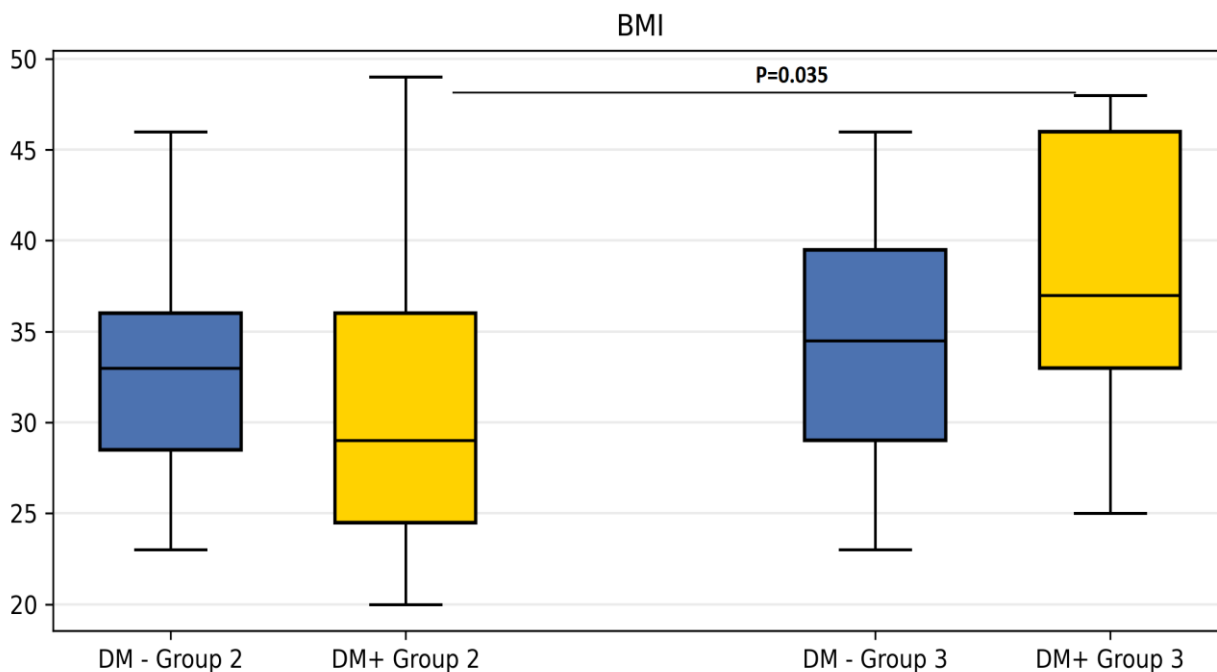
Въпреки тези различия, статистически значима разлика между двете групи не се установява (Mann–Whitney  $U = 407.0$ ;  $p = 0.0539$ ).



**Фиг. 3. Процентно разпределение на лицата в двете групи според ИТМ.**

При подгрупов анализ се установява, че диабетиците от Група 3 имат сигнификантно по-висок ИТМ в сравнение с диабетиците от Група 2 (Mann–Whitney  $U = 55.0$ ;  $p = 0.035$ ), докато при сравнение между диабетици и недиабетици в рамките на всяка група не се наблюдават статистически значими разлики ( $p > 0.05$ ) (Фиг. 4).

ИТМ показва положителна корелация с METS-IR (Група 2:  $r_s = 0.781$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.942$ ;  $p < 0.001$ ) и отрицателна корелация със съотношението адипонектин/лептин (Група 2:  $r_s = -0.434$ ;  $p = 0.012$ ; Група 3:  $r_s = -0.709$ ;  $p = 0.026$ ).

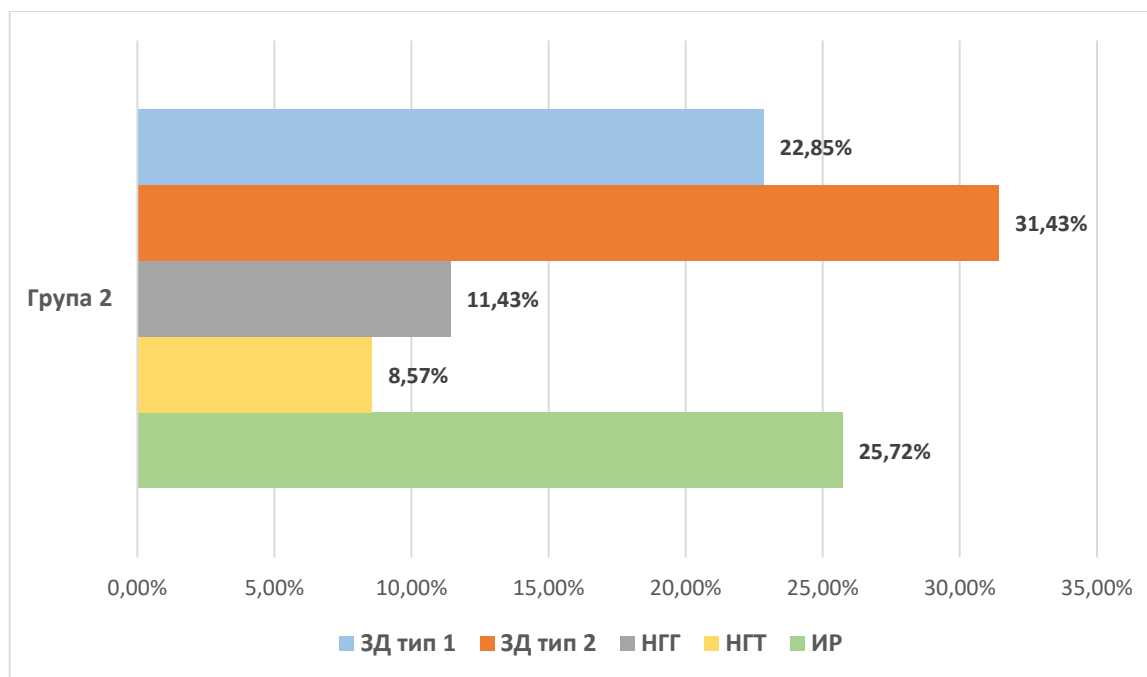


**Фиг. 4.** Стойности на ИТМ [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ] при лицата със ЗД (DM+) и без ЗД (DM-) от групи 2 и 3; Установена е сигнификантна разлика между диабетниците от двете групи ( $p = 0.035$ )

#### Метаболитен профил на изследваните лица

Метаболитният профил на лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (**Група 1**) показва висока честота на ЗД (50%), като при 21.88% от пациентите диабетът е новодиагностициран по време на хоспитализацията, докато при 28.12% е налице предшестващ ЗД тип 2. От пациентите с предшестващ ЗД само 11.11% са били на инсулинова терапия към момента на приемането, докато останалите са провеждали неинсулинова перорална антидиабетна терапия.

При преболедувалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна (**Група 2**) 54.28% са с новодиагностициран ЗД, включително 22.85% със ЗД тип 1 (вкл. LADA) и 31.43% със ЗД тип 2. Предиабетни състояния се установяват при 20.0% от лицата, като 11.43% са с НГГ и 8.57% – с НГТ. При останалите 25.72% се установява нормогликемия, съчетана с базална и/или стимулирана хиперинсулинемия и ИР (Фиг. 5).

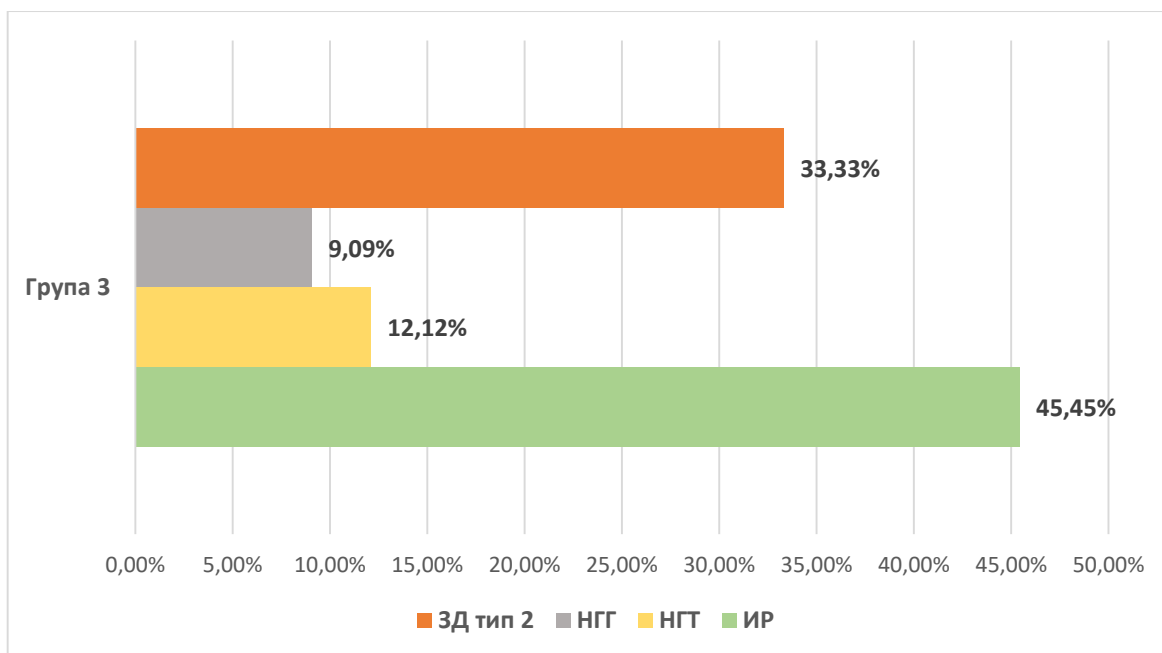


**Фиг. 5. Процентно разпределение на лицата от група 2, според типа установени въглехидратни нарушения**

Повишени медианни стойности на ИТМ, попадащи в диапазона на затлъстяване, се установяват при всички подгрупи с изключение на лицата със ЗД тип 1, при които ИТМ остава в границите на нормалното телесно тегло ( $24 \text{ kg/m}^2$ ).

При неболедувалите лица с МС (**Група 3**) 33.33% са със ЗД тип 2, като при 6.06% от тях заболяването е новодиагностицирано. Предиабетни състояния се установяват при 21.21% от лицата, включително 9.09% с НГГ и 12.12% с НГТ, докато при останалите 45.45% се наблюдава нормогликемия, съчетана с изразена ИР и хиперинсулинемия (Фиг. 6).

И във всички подгрупи медианните стойности на ИТМ попадат в диапазона на затлъстяване.



**Фиг. 6. Процентно разпределение на лицата от група 3, според типа въглехидратни нарушения.**

При хоспитализираните лица с активна SARS-CoV-2 инфекция от изходната кохорта (**Група 4**) 31.11% са със ЗД, като при 9.63% от пациентите диабетът е новодиагностициран по време на хоспитализацията, а при 21.47% е налице предшестващ ЗД тип 2. От лицата с известен ЗД, 27.6% са провеждали инсулинова терапия, докато 72.4% са били на неинсулинова антидиабетна терапия, включително инжекционна.

#### **Липиден профил и нива на пикочна киселина**

Анализът на липидния профил и пикочната киселина показва съществени различия между изследваните групи (Табл. 1).

При лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 4) се установява най-неблагоприятен липиден профил, характеризиращ се с най-високи стойности на триглицериди (ТГ) и изразено понижен HDL-холестерол (HDL-C). Хипертриглицеридемията е най-честа в тази група, а понижените стойности на HDL-C се наблюдават при почти всички пациенти. Нивата на LDL-холестерол (LDL-C) са сходни с тези в останалите групи.

При преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2) липидният профил е умерено неблагоприятен, с повишени ТГ и нисък HDL-C, но с по-ниска честота на хипертриглицеридемия спрямо активната инфекция.

В референтната група с МС (Група 3) се наблюдава типичен атерогенен липиден профил, с висока честота на хипертриглицеридемия и почти универсално понижени стойности на HDL-C.

Нивата на пикочната киселина са най-високи в групата на лицата с МС, следвани от преболедевалите, и най-ниски при активната инфекция.

**Табл. 1. Липиден профил и пикочна киселина при изследваните групи**

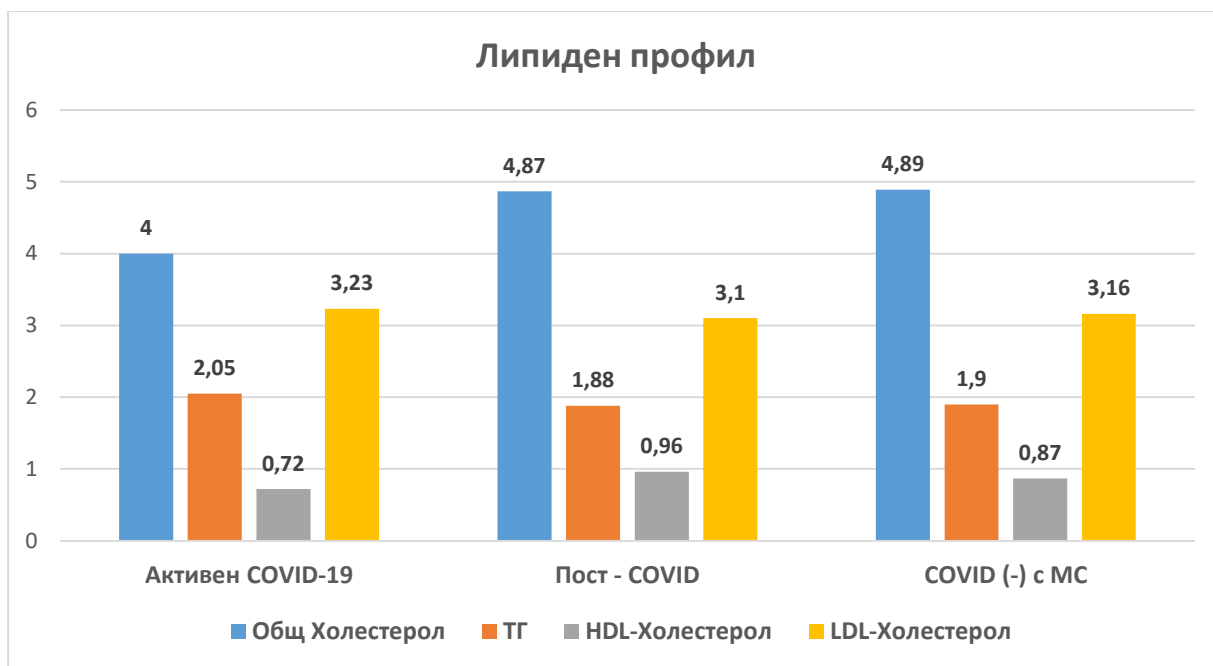
| Показател                      | Активен COVID-19 (n = 68)  | Пост-COVID с ВХ нарушения (n = 29)                                 | COVID-негативни с МС (n = 33)                                       |
|--------------------------------|--|--|---|
| <b>Общ холестерол [mmol/L]</b> | 4.00 ± 1.11<br>Med 3.8 (3.2 – 10.4)<br>>5.2 mmol/L: <b>16.18%</b>  | 4.87 ± 1.64<br>Med 4.8 (3.2 – 10.4)<br>>5.2 mmol/L: <b>17.14%</b>  | 4.88 ± 1.14<br>Med 4.7 (2.3 – 10.4)<br>>5.2 mmol/L: <b>33.33%</b>   |
| <b>ТГ [mmol/L]</b>             | 2.05 ± 0.86<br>Med 1.97 (0.86 – 6.2)<br>≥1.7 mmol/L: <b>59.42%</b> | 1.88 ± 0.84<br>Med 1.57 (0.9 – 3.67)<br>≥1.7 mmol/L: <b>31.45%</b> | 1.90 ± 0.82<br>Med 1.64 (0.85 – 4.16)<br>≥1.7 mmol/L: <b>45.46%</b> |
| <b>HDL-C [mmol/L]</b>          | 0.72 ± 0.24<br>Med 0.68 (0.2 – 1.14)<br>↓: ♂ 100%, ♀ 88.89%        | 0.96 ± 0.38<br>Med 0.94 (0.1 – 2.06)<br>↓: ♂ 61.5%, ♀ 68%          | 0.87 ± 0.23<br>Med 0.81 (0.51 – 1.55)<br>↓: ♂ 100%, ♀ 96.6%         |
| <b>LDL-C [mmol/L]</b>          | 3.23 ± 0.93<br>Med 3.23 (1.67 – 5.5)<br>>3.4 mmol/L: <b>33.33%</b> | 3.09 ± 1.37<br>Med 2.97 (1.51 – 8.14)<br>>3.4 mmol/L: <b>25.7%</b> | 3.16 ± 0.96<br>Med 3.2 (1.02 – 5.12)<br>>3.4 mmol/L: <b>33.33%</b>  |
| <b>Пикочна к-на [μmol/L]</b>   | 367.67 ± 159.0<br>Med 341 (117 – 739)<br>↑: ♂ 26.19%, ♀ 55%        | 398.23 ± 101.58<br>Med 378.5 (193 – 625)<br>↑: ♂ 60%, ♀ 62.5%      | 415.04 ± 101.37<br>Med 391 (298 – 718)<br>↑: ♂ 33.33%, ♀ 83.33%     |

*Бележка: Данните са представени като Mean ± SD; Median (range). Понижени стойности на HDL-C и повишени стойности на останалите показатели са дефинирани съгласно общоприетите референтни граници. \*n отразява броя участници с налични данни за съответния показател и може да варира между отделните анализи.*

## 2. Оценка на основни параметри на липидния профил и други ключови метаболитни показатели, както и състоянието на чернодробната функция, в различните фази на инфекцията.

### 2.1. Основни липидни и други метаболитни параметри

Анализът на липидния профил при групи 2 (пост-COVID с нововъзникнали ВХ нарушения), 3 (COVID-негативни с МС) и 4 (активен COVID-19) разкрива фазово-зависим модел на промени (Фиг. 7).



**Фиг. 7.** Средни стойности в [mmol/L] на основни параметри на липидния профил сред лицата от трите групи – активен COVID, пост-COVID и неболедували с MC

**Общ холестерол.** Установяват се статистически значими различия в нивата на общия холестерол между трите групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 20.74$ ;  $p < 0.001$ ). При активна SARS-CoV-2 инфекция стойностите са значимо по-ниски спрямо група 2 (Mann–Whitney  $U = 1411.5$ ;  $p = 0.001$ ) и група 3 (Mann–Whitney  $U = 1667.0$ ;  $p < 0.001$ ), без разлика между групи 2 и 3 (Mann–Whitney  $U = 434.0$ ;  $p = 0.530$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, gamma) активната инфекция остава независимо асоциирана с по-нисък общ холестерол спрямо група 3 ( $\beta = -0.239$ ;  $e^{\beta} = 0.79$ ; 95% CI 0.68–0.91;  $p = 0.001$ ) и група 2 ( $\beta = -0.230$ ;  $e^{\beta} = 0.79$ ; 95% CI 0.69–0.92;  $p = 0.002$ ), без разлика между групи 2 и 3 ( $\beta = -0.009$ ;  $p = 0.899$ ). По пол и диабетен статус не се установяват вътрегрупови различия ( $p > 0.05$ ). Сред недиабетиците активната инфекция е свързана със значимо по-нисък холестерол спрямо пост-COVID (Mann–Whitney  $U = 460.5$ ;  $p = 0.014$ ) и референтната група с MC (Mann–Whitney  $U = 832.5$ ;  $p < 0.001$ ), без значими различия при диабетиците ( $p > 0.05$ ).

**ТГ.** Нивата на ТГ се различават значимо между групите (Kruskal–Wallis  $H(2) = 16.617$ ;  $p < 0.001$ ), като най-високи стойности се отчитат при активна инфекция, като те са значимо по-високи спрямо група 3 (Mann–Whitney  $U = 187.0$ ;  $p = 0.017$ ) и група 2 (Mann–Whitney  $U = 103.0$ ;  $p < 0.001$ ), без разлика между групи 2 и 3 ( $p > 0.05$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, gamma) не се установяват независими различия между пост-COVID и референтната група ( $\beta = -0.039$ ;  $p = 0.724$ ), между активна и референтна група ( $\beta = 0.021$ ;  $p = 0.855$ ), както и между активна и пост-COVID фаза ( $\beta = 0.060$ ;  $p = 0.607$ ). По пол не се установяват значими вътрегрупови различия ( $p > 0.05$ ). По отношение на диабетния статус статистически значима разлика се отчита единствено в група 3, където диабетниците имат по-високи ТГ спрямо недиабетниците (Mann–Whitney  $U = 180.0$ ;  $p = 0.025$ ), докато в останалите групи разлики не се установяват ( $p > 0.05$ ).

**HDL-C.** При сравнение на HDL-C между трите групи не се установяват статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 6.19$ ;  $p > 0.05$ ), въпреки тенденцията към по-ниски стойности при активна SARS-CoV-2 инфекция.

След корекция за възраст и пол (GLM, gamma log-link) не се наблюдават разлики между пост-COVID и референтната група ( $\beta = 0.156$ ;  $p = 0.058$ ), нито между активна и референтна група ( $\beta = -0.153$ ;  $p = 0.145$ ). Директното сравнение показва значимо по-ниски нива при активна инфекция спрямо пост-COVID фазата ( $\beta = -0.309$ ;  $e^{\beta} = 0.73$ ; 95% CI 0.58–0.93;  $p = 0.039$ ). Женският пол е независимо асоцииран с по-висок HDL-C ( $e^{\beta} = 1.31$ ; 95% CI 1.11–1.55;  $p = 0.0015$ ). Вътрегрупово статистически значима разлика между мъже и жени се установява единствено при активна SARS-CoV-2 инфекция (Mann–Whitney  $U = 24.0$ ;  $p = 0.003$ ). В групата на неболедевалите лица с МС диабетниците имат значимо по-ниски нива на HDL-C спрямо недиабетниците (Mann–Whitney  $U = 69.0$ ;  $p = 0.049$ ).

**LDL-C.** Нивата на LDL-C не се различават значимо между отделните групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 0.818$ ;  $p = 0.664$ ). След корекция за възраст и пол чрез GLM с gamma-разпределение не се наблюдават независими разлики нито между пост-COVID и референтната група ( $\beta = -0.054$ ;  $p = 0.572$ ), нито между активна инфекция и референтна група ( $\beta = -0.039$ ;  $p = 0.770$ ), както и между активната и пост-COVID фазата ( $\beta = 0.015$ ;  $p = 0.911$ ). Вътрегрупово статистически значима разлика по пол се установява единствено при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция, където мъжете имат по-високи нива на LDL-C (Mann–Whitney  $U = 37.0$ ;  $p = 0.021$ ). Значими разлики между диабетници и недиабетници липсват ( $p > 0.05$ ).

**Пикочна киселина.** Установяват се статистически значими различия между трите групи при непараметричния анализ (Kruskal–Wallis  $H(2) = 6.105$ ;  $p = 0.047$ ), въпреки отчетливата тенденция към най-ниски стойности при активна SARS-CoV-2 инфекция.

При последващ пост-хок анализ, обаче не се потвърждават статистически значими разлики при двойните сравнения.

След корекция за възраст и пол чрез обобщен линеен модел (GLM, gamma, log-link) преболедувалите пациенти не се различават значимо от неболедувалите с МС ( $\beta = 0.002$ ;  $p = 0.981$ ). За разлика от тях, при активна SARS-CoV-2 инфекция се установяват значимо по-ниски нива на пикочна киселина както спрямо референтната група с МС ( $\beta = -0.332$ ;  $e^\beta = 0.72$ ; 95% CI 0.59–0.87;  $p < 0.001$ ), така и спрямо пост-COVID групата ( $\beta = -0.334$ ;  $e^\beta = 0.72$ ; 95% CI 0.59–0.87;  $p < 0.001$ ).

Вътрегрупово не се установяват статистически значими различия по пол ( $p > 0.05$ ). По отношение на диабетния статус сигнификантна разлика се наблюдава единствено при активна инфекция, където диабетиците демонстрират по-високи нива на пикочна киселина спрямо недиабетиците (Mann–Whitney  $U = 793.5$ ;  $p = 0.013$ ). В останалите групи разлики не се установяват ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ установи статистически значими взаимовръзки между клинични и биохимични показатели. ТГ корелираха положително с TyG index и съотношението TG/HDL-C във всички групи ( $p < 0.001$ ), докато HDL-C показва отрицателна корелация с тези индекси при групи 2 и 3. Общият холестерол корелира положително с LDL-C във всички групи ( $r_s = 0.791$ – $0.919$ ;  $p < 0.001$ ). Пикочната киселина показва положителна корелация с METS-IR ( $r_s = 0.612$ ;  $p = 0.002$ ) при пост-COVID пациентите и с възрастта при активна инфекция ( $r_s = 0.354$ ;  $p < 0.001$ ).

## 2.2. Проследяване на хепато-билиарната функция

Чернодробните ензими демонстрират фазово-зависими различия между изследваните групи, като най-изразени отклонения се установяват при активна SARS-CoV-2 инфекция (Табл. 2).

**Табл. 2. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на ASAT и ALAT [IU/L]**

| Показател | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 25*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*) | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test  |
|-----------|---|--------------------------------------|---|-----------------------------|
| ASAT      | 37.72 $\pm$ 30.52<br>29.0 (29.0)        | 20.13 $\pm$ 13.73<br>17.0 (11.75)    | 24.50 $\pm$ 19.35<br>19.5 (9.25)        | $H = 10.573$<br>$p = 0.005$ |
| ALAT      | 34.77 $\pm$ 26.54<br>28.0 (27.0)        | 34.34 $\pm$ 45.74<br>23.5 (17.75)    | 26.09 $\pm$ 20.81<br>17.5 (16.75)       | $H = 2.599$<br>$p = 0.272$  |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирания показател.

**ASAT.** Установяват се статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 10.573$ ;  $p = 0.005$ ), като най-високи стойности се наблюдават при активна инфекция (Табл. 2). Пост-хок анализът показва значима разлика единствено между групи 1 и 2 (Mann–Whitney  $U = 491.5$ ;  $p = 0.002$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link), активната инфекция остава независимо асоциирана с по-високи нива на ASAT спрямо референтната група ( $\beta = 0.34$ ;  $e^\beta = 1.40$ ; 95% CI 1.05–1.87;  $p = 0.021$ ) и спрямо пост-COVID групата ( $\beta = 0.24$ ;  $e^\beta = 1.27$ ; 95% CI 1.09–1.49;  $p = 0.003$ ). Установява се тенденция за по-високи нива на ASAT при мъжете в сравнение с жените в групите, като най-изразена е разликата при пациентите с активна COVID-19 инфекция. По отношение на диабетния статус не се установяват съществени различия в рамките на отделните групи, с изключение на значимо по-високи нива на ASAT при диабетниците с активна инфекция (Група 1) спрямо преболедувалите диабетници (Група 2) (Mann–Whitney  $U = 187.5$ ;  $p = 0.008$ ).

**ALAT.** Не се установяват статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 2.599$ ;  $p = 0.272$ ), въпреки че най-високи средни и медианни стойности се наблюдават при активна инфекция (Табл. 2).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се доказват независими разлики между групите – както активният COVID-19, така и пост-COVID статусът показват несигнификантна тенденция към по-високи нива спрямо референтната група. Наблюдава се тенденция за по-високи стойности при мъжете и недиабетниците, без статистическа значимост.

### **Чернодробни ензими при активна SARS-CoV-2 инфекция – сравнителен анализ**

При сравнение на двете групи с активна SARS-CoV-2 инфекция (Табл. 3) изходната кохорта (Група 4) демонстрира статистически значимо по-високи нива на ASAT спрямо Група 1 (Mann–Whitney  $U = 2231.5$ ;  $p = 0.011$ ), като честотата на наднормени стойности ( $>40$  U/L) е по-висока (40% срещу 21.88%). По отношение на ALAT се наблюдава тенденция към по-високи стойности в Група 4, но без статистическа значимост ( $p = 0.178$ ), при по-висок относителен дял на патологични стойности (31.11% срещу 21.88%).

Нивата на GGT не се различават съществено между групите ( $p = 0.885$ ), въпреки значително по-високата честота на повишени стойности ( $>35$  U/L) в Група 4 (63.7% срещу 28%).

**Табл. 3. Описателна статистика (Mean ± SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на ASAT, ALAT и GGT [IU/L]**

| Показател | Група 1<br>(n = 25*)              | Група 4<br>(n = 135*)            | Mann-Whitney U<br>Test      |
|-----------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| ASAT      | 37.72 ± 30.52<br>29.00 (29.00)    | 61.77 ± 92.02<br>43.00 (31.16)   | $U = 2231.5$<br>$p = 0.011$ |
| ALAT      | 34.77 ± 26.54<br>28.00 (27.00)    | 47.93 ± 50.07<br>33.38 (28.65)   | $U = 1975.0$<br>$p = 0.178$ |
| GGT       | 106.78 ± 121.31<br>49.00 (108.04) | 106.1 ± 199.04<br>47.51 (106.06) | $U = 1028.5$<br>$p = 0.885$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

Корелационният анализ при лицата с активна инфекция (Група 1) показва силна положителна връзка между ALAT и ASAT ( $r_s = 0.788$ ;  $p < 0.001$ ), както и умерена корелация между ALAT и GGT ( $r_s = 0.607$ ;  $p = 0.016$ ). В изходната кохорта с активен COVID-19 (Група 4) ALAT корелира положително с GGT ( $r_s = 0.456$ ;  $p < 0.001$ ) и LDH ( $r_s = 0.419$ ;  $p < 0.001$ ). В същата група се установява силна корелация между ASAT и ALAT ( $r_s = 0.767$ ;  $p < 0.001$ ), както и положителна връзка между ASAT и LDH ( $r_s = 0.536$ ;  $p < 0.001$ ).

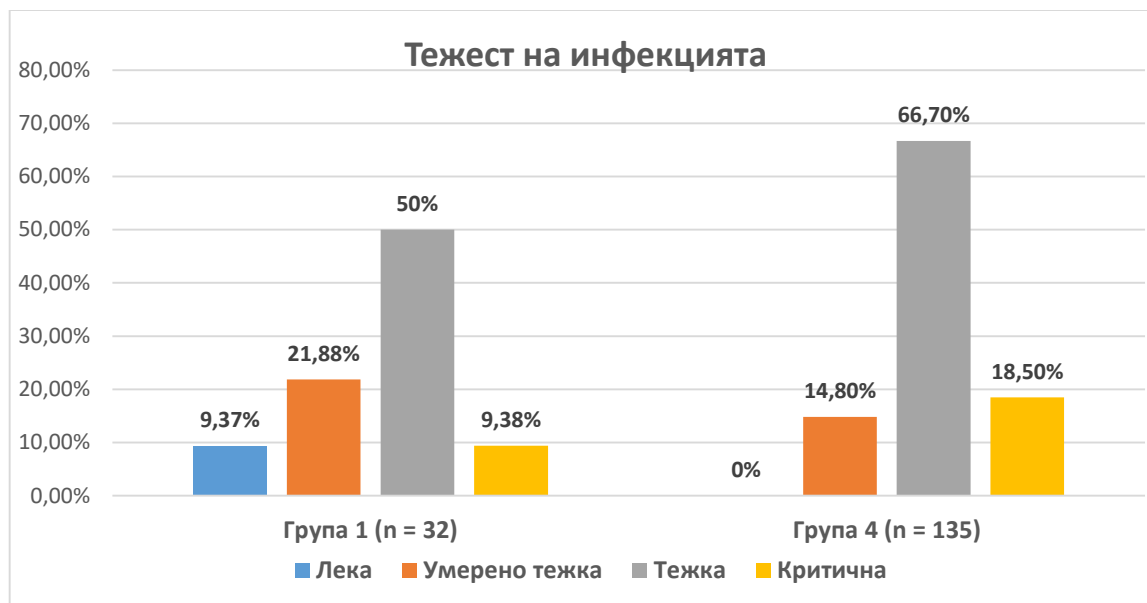
При активна инфекция се регистрират и корелации между чернодробните ензими и възпалителни медиатори, включително ALAT и IL-17A ( $r_s = 0.514$ ;  $p = 0.008$ ), ASAT и IL-17A ( $r_s = 0.397$ ;  $p = 0.049$ ), както и GGT с IL-10 ( $r_s = 0.786$ ;  $p < 0.001$ ) и HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.468$ ;  $p = 0.012$ ). В пост-COVID групата (Група 2) ALAT корелира положително с IL-10 ( $r_s = 0.418$ ;  $p = 0.033$ ).

### **3. Проследяване на възпалителен статус, участието на проинфламаторните и антиинфламаторните цитокини, както и на други маркери на имунно възпаление**

#### **3.1. Възпалителен статус и тежест на инфекцията**

**Тежест на инфекцията.** При пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1; n = 32) тежките форми представляват 50%, критично протичане се наблюдава при 9.38%. Регистриран е леталитет от 6.25%, а средният болничен престой – 10.45 дни. В надлъжно проследяваната кохорта с активен COVID-19 (Група 4; n = 135) тежките и критичните форми са съответно 66.7% и 18.5%, при леталитет 3.7% и среден болничен престой 10.39 дни.

В Група 1 не се установяват съществени различия в тежестта на протичане между диабетици и недиабетици, докато в Група 4 лицата със ЗД демонстрират по-тежко клинично протичане и по-неблагоприятен изход.



**Фиг. 8.** Процентно разпределение на лицата според тежестта на COVID-19 в двете групи с активна коронавирусна инфекция – група 1 и група 4.

**Възпалителни и тъканни маркери.** CRP и LDH са повишени и в двете кохорти (Табл. 4), като стойностите са значимо по-високи в Група 4 (CRP:  $p = 0.018$ ; LDH:  $p = 0.025$ ). В изходната кохорта LDH корелира с тежестта на протичане ( $r_s = 0.304$ ;  $p < 0.001$ ).

**Табл. 4.** Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупово сравнение на възпалителни и тъканни маркери при пациенти с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1 и Група 4)

| Показател        | Група 1 (n = 32)                       | Група 4 (n = 135)                      | Mann-Whitney Test           |
|------------------|--|--|-----------------------------|
| CRP [mg/L]       | 64.15 $\pm$ 73.90<br>36.15 (52.75)     | 93.17 $\pm$ 69.54<br>81.04 (91.01)     | $U = 1017.5$<br>$p = 0.018$ |
| LDH [IU/L]       | 645.56 $\pm$ 383.54<br>566.00 (414.52) | 765.42 $\pm$ 389.00<br>721.00 (389.00) | $U = 985.0$<br>$p = 0.025$  |
| Фибриноген [g/L] | 5.08 $\pm$ 1.02<br>5.00 (1.21)         | 4.88 $\pm$ 1.13<br>4.91 (1.45)         | $U = 1330.0$<br>$p = 0.590$ |
| D-димер [µg/mL]  | 5.01 $\pm$ 8.38<br>0.91 (4.52)         | 1.73 $\pm$ 2.06<br>0.95 (1.72)         | $U = 1487.5$<br>$p = 0.261$ |

Нивата на **фибриноген** са в горната граница на референтните стойности и са сходни между групите, без статистически значима разлика ( $p = 0.59$ ). **D-димерът** е повишен и в двете кохорти, без статистически значима разлика между тях ( $p = 0.261$ ). В Група 1 D-

димерът корелира положително с LDH ( $r_s = 0.526$ ;  $p = 0.021$ ) и с GP-73 ( $r_s = 0.460$ ;  $p = 0.048$ ).

### 3.2. Про- и антиинфламаторни цитокини

#### 3.2.1. Проинфламаторни цитокини

Табл. 5. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на TNF- $\alpha$ , IL-17A и IFN- $\gamma$  [pg/mL]

| Показател     | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*)  | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test  |
|---------------|---|---------------------------------------|---|-----------------------------|
| TNF- $\alpha$ | 117.09 $\pm$ 77.71<br>110.60 (95.39)    | 129.09 $\pm$ 116.95<br>89.92 (136.37) | 85.36 $\pm$ 71.60<br>59.67 (106.17)     | $H = 4.142$<br>$p = 0.126$  |
| IL-17A        | 29.44 $\pm$ 4.90<br>28.07 (3.86)        | 30.26 $\pm$ 14.76<br>26.14 (3.86)     | 40.45 $\pm$ 35.01<br>29.04 (7.71)       | $H = 12.148$<br>$p = 0.002$ |
| IFN- $\gamma$ | 12.23 $\pm$ 3.33<br>11.17 (4.75)        | 5.90 $\pm$ 4.25<br>4.53 (4.13)        | 14.90 $\pm$ 5.79<br>13.12 (8.60)        | $H = 40.288$<br>$p < 0.001$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

**TNF- $\alpha$ .** Не се установяват статистически значими различия в серумните нива на TNF- $\alpha$  между трите групи при некоригирания анализ (Kruskal–Wallis  $H(2) = 4.142$ ;  $p = 0.126$ ), въпреки наблюдаваната тенденция към по-високи стойности при преболедевалите пациенти с нововъзникнали ВХ нарушения и при лицата с активна инфекция спрямо COVID-негативните лица с МС (Табл. 5).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) се установява статистически значимо повишение на TNF- $\alpha$  в пост-COVID групата спрямо контролната ( $\beta = 0.43$ ;  $e^\beta = 1.53$ ; 95% CI 1.01–2.31;  $p = 0.045$ ), докато при активната инфекция се отчита несигнификантна тенденция към увеличение ( $\beta = 0.26$ ;  $p = 0.352$ ), без разлика между двете COVID-фази ( $\beta = -0.16$ ;  $p = 0.537$ ). Не се установяват значими междугрупови различия по пол и диабетен статус ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва силни положителни зависимости между TNF- $\alpha$  и CD4 и CD8 Т-лимфоцитните маркери във всички групи ( $p < 0.001$ ), както и умерена отрицателна корелация с HbA1c при активна инфекция ( $r_s = -0.472$ ;  $p = 0.047$ ).

**IL-17A.** Установяват се статистически значими междугрупови различия в серумните нива на IL-17A (Kruskal–Wallis  $H(2) = 12.148$ ;  $p = 0.002$ ), като пост-хок анализът показва липса на разлика между активна и пост-COVID фаза ( $p = 0.230$ ), значимо по-високи нива при COVID-негативните лица с МС спрямо преболедевалите пациенти (Mann–Whitney

$U = 281.0$ ;  $p = 0.001$ ) и несигнификантна разлика между активна инфекция и контроли (Mann–Whitney  $U = 349.5$ ;  $p = 0.142$ ) (Табл. 5).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) се отчита тенденция към по-ниски нива при активна инфекция спрямо контролната група ( $\beta = -0.37$ ;  $p = 0.065$ ) и статистически значимо понижение в пост-COVID периода ( $\beta = -0.34$ ;  $e^\beta = 0.71$ ; 95% CI 0.52–0.96;  $p = 0.028$ ), без разлика между двете COVID-фази ( $\beta = -0.03$ ;  $p = 0.858$ ). Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия, но се отчита статистически значима разлика между диабетичите от групи 2 и 3 (Mann–Whitney  $U = 39.5$ ;  $p = 0.011$ ), както и между недиабетичите от същите групи (Mann–Whitney  $U = 88.5$ ;  $p = 0.015$ ).

Корелационният анализ демонстрира значими асоциации с имунни, метаболитни и оксидативни показатели: при активна инфекция – с ALAT ( $r_s = 0.514$ ;  $p = 0.008$ ), ASAT ( $r_s = 0.397$ ;  $p = 0.049$ ) и IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.378$ ;  $p = 0.047$ ); в пост-COVID групата – с CD8 ( $r_s = 0.456$ ;  $p = 0.007$ ), NFE2L2 ( $r_s = 0.367$ ;  $p = 0.038$ ), общ холестерол ( $r_s = 0.407$ ;  $p = 0.035$ ), LDL-C ( $r_s = 0.394$ ;  $p = 0.042$ ) и TG индекс ( $r_s = 0.384$ ;  $p = 0.047$ ); при контролната група с MC – с IL-7 ( $r_s = 0.457$ ;  $p = 0.008$ ) и NFE2L2 ( $r_s = 0.431$ ;  $p = 0.015$ ).

**IFN- $\gamma$ .** Проследявайки серумните нива на IFN- $\gamma$  се установяват изразени и статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 40.288$ ;  $p < 0.001$ ), като двойните сравнения показват значимо по-ниски стойности при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения спрямо както активната инфекция (Mann–Whitney  $U = 113.0$ ;  $p < 0.001$ ), така и COVID-негативните контроли с MC (Mann–Whitney  $U = 100.5$ ;  $p < 0.001$ ), без разлика между активна инфекция и контролната група ( $p = 0.142$ ) (Табл. 5).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) активната инфекция не се асоциира със значима промяна спрямо контролната група ( $\beta = -0.16$ ;  $p = 0.360$ ), докато пост-COVID групата демонстрира изразено понижение ( $\beta = -0.94$ ;  $e^\beta = 0.39$ ; 95% CI 0.30–0.50;  $p < 0.001$ ). Директното сравнение между активна и пост-COVID фаза показва значимо по-високи нива при активна инфекция ( $\beta = 0.79$ ;  $e^\beta = 2.20$ ; 95% CI 1.58–3.06;  $p < 0.001$ ).

Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия ( $p > 0.05$ ), но при междугруповото сравнение диабетичите от пост-COVID групата имат значимо по-ниски стойности спрямо диабетичите с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 246.0$ ;

$p < 0.001$ ) и спрямо контролната група (Mann–Whitney  $U = 20.5$ ;  $p < 0.001$ ). Аналогичен модел се наблюдава и при недиабетиците (Група 1 vs 2: Mann–Whitney  $U = 161.0$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2 vs 3: Mann–Whitney  $U = 31.5$ ;  $p < 0.001$ ).

Корелационният анализ разкрива значими асоциации: при активна инфекция – с IL-7 ( $r_s = 0.462$ ;  $p = 0.013$ ) и IL-17A ( $r_s = 0.378$ ;  $p = 0.047$ ); в пост-COVID групата – с IL-7 ( $r_s = 0.609$ ;  $p < 0.001$ ), HCF-D ( $r_s = 0.394$ ;  $p = 0.023$ ), проинсулин ( $r_s = 0.534$ ;  $p = 0.001$ ), GP-73 ( $r_s = -0.623$ ;  $p < 0.001$ ), съотношенията Insulin/Proinsulin ( $r_s = -0.488$ ;  $p = 0.007$ ) и TG/HDL-C ( $r_s = 0.411$ ;  $p = 0.037$ ); при референтната група – с NFE2L2 ( $r_s = 0.416$ ;  $p = 0.019$ ) и GP-73 ( $r_s = 0.488$ ;  $p = 0.007$ ).

### 3.2.2. Антиинфламаторни и цитокини с имунорегулаторна функция

**IL-7.** Установяват се статистически значими междугрупови различия в серумните нива на IL-7 (Kruskal–Wallis  $H(2) = 28.072$ ;  $p < 0.001$ ), като пост-хок анализът показва значимо по-високи стойности при COVID-негативните лица с МС спрямо както активната инфекция (Mann–Whitney  $U = 224.5$ ;  $p = 0.001$ ), така и спрямо пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 160.5$ ;  $p < 0.001$ ), без разлика между активна и пост-COVID фаза ( $p > 0.05$ ) (Табл. 6).

**Табл. 6. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на IL-7 и IL-10 [pg/mL]**

| Показател    | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*) | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test  |
|--------------|---|--------------------------------------|---|-----------------------------|
| <b>IL-7</b>  | 36.70 $\pm$ 10.84<br>36.76 (12.91)      | 34.38 $\pm$ 33.01<br>28.18 (7.80)    | 55.22 $\pm$ 29.19<br>51.42 (25.83)      | $H = 28.072$<br>$p < 0.001$ |
| <b>IL-10</b> | 4.54 $\pm$ 4.75<br>3.09 (2.27)          | 3.45 $\pm$ 4.30<br>2.35 (0.89)       | 2.99 $\pm$ 1.26<br>2.81 (0.79)          | $H = 4.733$<br>$p = 0.094$  |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) IL-7 остава значимо понижен както при активна инфекция ( $\beta = -0.62$ ;  $e^\beta = 0.54$ ; 95% CI 0.36–0.81;  $p = 0.003$ ), така и в пост-COVID периода ( $\beta = -0.56$ ;  $e^\beta = 0.57$ ; 95% CI 0.42–0.78;  $p < 0.001$ ) спрямо контролите, без значима разлика между двете COVID-фази ( $\beta = -0.06$ ;  $p = 0.747$ ).

Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия ( $p > 0.05$ ), но при междугруповото сравнение диабетите от контролната група с МС демонстрират по-високи нива спрямо диабетите с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 38.5$ ;  $p = 0.015$ ) и спрямо пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 34.0$ ;  $p = 0.005$ ), а

при недиабетиците IL-7 е по-висок в контролната група спрямо пост-COVID (Mann-Whitney  $U = 42.5$ ;  $p < 0.001$ ).

Корелационният анализ разкрива: при активна инфекция – положителни зависимости с IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.462$ ;  $p = 0.013$ ), HCF-D ( $r_s = 0.436$ ;  $p = 0.020$ ) и NFE2L2 ( $r_s = 0.439$ ;  $p = 0.019$ ); в пост-COVID групата – положителни корелации с CD4 ( $r_s = 0.351$ ;  $p = 0.045$ ), CD8 ( $r_s = 0.365$ ;  $p = 0.036$ ), ИТМ ( $r_s = 0.475$ ;  $p = 0.006$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.425$ ;  $p = 0.030$ ), както и отрицателна зависимост с GP-73 ( $r_s = -0.398$ ;  $p = 0.021$ ); при референтната група с МС – положителни корелации с IL-10 ( $r_s = 0.694$ ;  $p < 0.001$ ), IL-17A ( $r_s = 0.457$ ;  $p = 0.008$ ) и NFE2L2 ( $r_s = 0.433$ ;  $p = 0.014$ ).

**IL-10.** Наблюдава се тенденция към по-високи серумни нива на IL-10 при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция спрямо пост-COVID групата с нововъзникнали ВХ нарушения и контролите с МС (Табл. б), но междугруповите различия не достигат статистическа значимост (Kruskal-Wallis  $H(2) = 4.733$ ;  $p = 0.094$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установява независим групов ефект върху нивата на IL-10: активна инфекция спрямо контроли ( $\beta = 0.05$ ;  $p = 0.860$ ), пост-COVID спрямо контроли ( $\beta = -0.07$ ;  $p = 0.746$ ) и активна спрямо пост-COVID група ( $\beta = 0.12$ ;  $p = 0.655$ ).

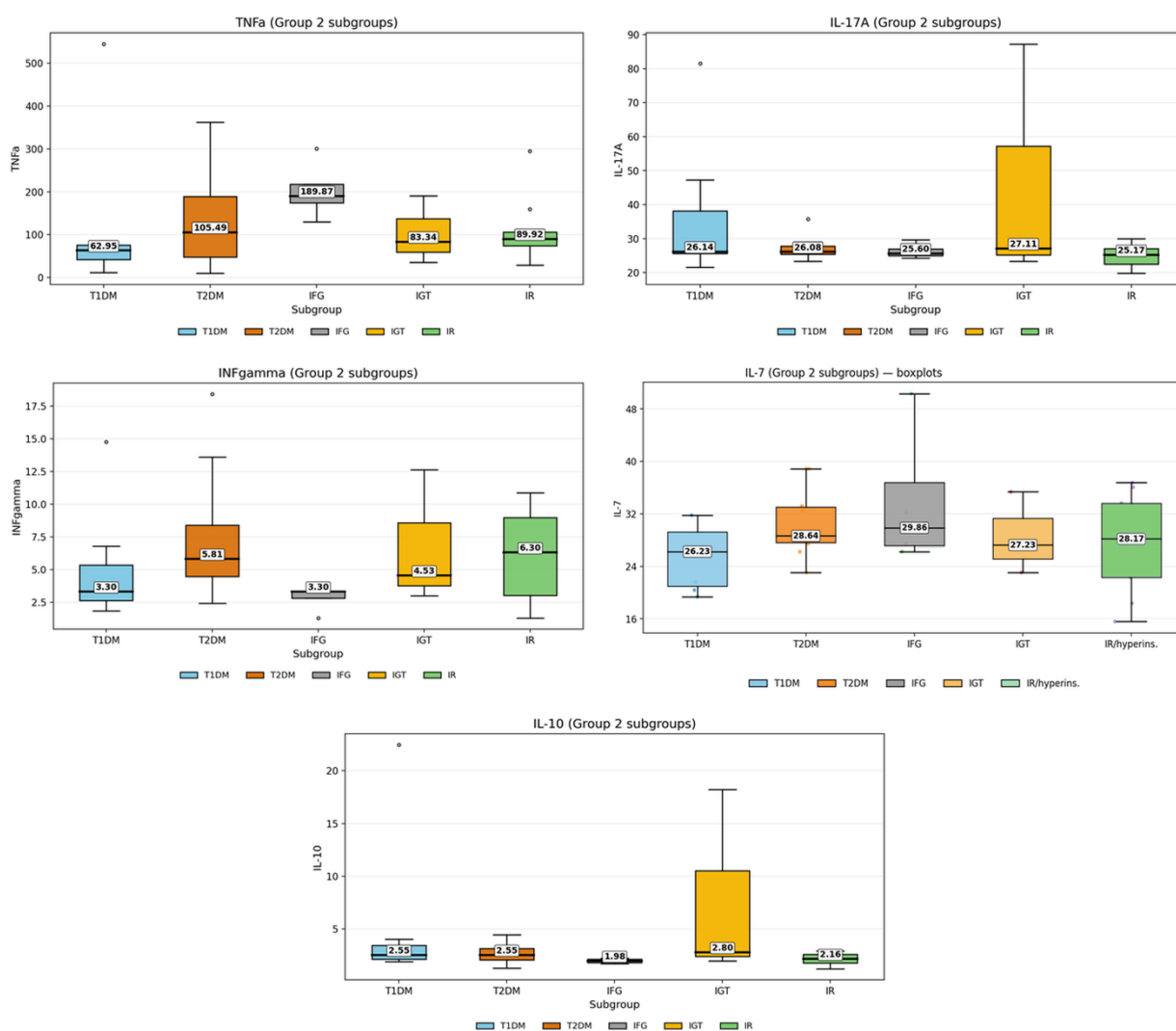
Значими вътрегрупови различия по пол и диабетен статус не се установяват ( $p > 0.05$ ), но при междугрупово сравнение се отчитат значимо по-високи нива на IL-10 при недиабетиците от контролната група (Група 3) спрямо недиабетиците от пост-COVID групата (Група 2) (Mann-Whitney  $U = 42.5$ ;  $p < 0.001$ ).

Корелационният анализ показва: при активна инфекция – положителна корелация с HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.425$ ;  $p = 0.024$ ); в пост-COVID групата – положителни зависимости с глюкоза ( $r_s = 0.369$ ;  $p = 0.034$ ), HbA1c ( $r_s = 0.510$ ;  $p = 0.013$ ) и ALAT ( $r_s = 0.418$ ;  $p = 0.033$ ), отрицателна с НОМА-В ( $r_s = -0.458$ ;  $p = 0.011$ ), както и положителни корелации с индексите за ИР - TyG index ( $r_s = 0.481$ ;  $p = 0.008$ ), съотношението TG/HDL-C ( $r_s = 0.435$ ;  $p = 0.021$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.437$ ;  $p = 0.020$ ); при референтната група с МС – положителни корелации с IL-7 ( $r_s = 0.694$ ;  $p < 0.001$ ) и NFE2L2 ( $r_s = 0.381$ ;  $p = 0.034$ ).

## Имунологичен профил при подгрупите с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2)

При сравнение на серумните нива на IL-7, IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  между подгрупите с нововъзникнали ВХ нарушения в пост-COVID периода не се установяват статистически значими различия ( $p > 0.05$  за всички показатели, Фиг. 9).

Описателният анализ показва вариабилност в разпределението на стойностите между отделните форми на дисгликемия. При лицата със ЗД тип 1/LADA се наблюдава по-широк диапазон на стойностите на TNF- $\alpha$ , IL-7 и IL-17A. Подгрупата с НГТ демонстрира относително по-високи стойности на IL-10, IL-17A и IFN- $\gamma$ , докато при НГТ се отчитат по-високи медианни стойности на TNF- $\alpha$ . Подгрупите със ЗД тип 2 и ИР показват сходни разпределения на изследваните цитокини.



Фиг. 9. Разпределение (Median; IQR) на про- и противвъзпалителни цитокини в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГТ, НГТ и ИР.

### 3.3. Маркери на клетъчно-медиерания имунен отговор и системата на комплемента

При сравнение на серумните нива на маркерите на клетъчно-медиерания имунен отговор (CD4, CD8) и комплементарния фактор HCF-D между трите групи (Група 1 – активна SARS-CoV-2 инфекция; Група 2 – пост-COVID с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна; Група 3 – COVID-негативни лица с MC) се установяват отчетливи и статистически значими междугрупови различия (Табл. 8).

**Табл. 8. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на CD4, CD8 и HCF-D [ng/mL]**

| Показател    | Група 1 – Активен COVID (n = 32*)               | Група 2 – Пост-COVID (n = 35*)             | Група 3 – COVID (-) с MC (n = 33*)                    | Kruskal–Wallis Test         |
|--------------|---|--|---|-----------------------------|
| <b>CD4</b>   | 8.65 $\pm$ 2.07<br>7.90 (8.78)                  | 8.24 $\pm$ 3.18<br>4.89 (7.80)             | 4.41 $\pm$ 1.30<br>3.59 (4.70)                        | $H = 10.239$<br>$p = 0.005$ |
| <b>CD8</b>   | 18.70 $\pm$ 4.21<br>15.55 (11.82)               | 24.45 $\pm$ 8.27<br>16.01 (22.62)          | 31.08 $\pm$ 7.73<br>26.90 (31.96)                     | $H = 4.409$<br>$p = 0.110$  |
| <b>HCF-D</b> | 8027.77 $\pm$<br>13354.29<br>1 175.52 (9149.46) | 966.18 $\pm$<br>2038.86<br>318.02 (516.26) | 34 611.23 $\pm$<br>27 011.75<br>36 012.55 (35 344.65) | $H = 49.274$<br>$p < 0.001$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирания показател.

**CD4.** Серумните нива на CD4 демонстрират статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 10.239$ ;  $p = 0.005$ ), като пост-хок анализът показва значимо по-високи стойности при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция спрямо COVID-негативните лица с MC (Mann–Whitney  $U = 237.5$ ;  $p = 0.001$ ), без значими разлики между активната и пост-COVID фазата, както и между пост-COVID групата и контролите ( $p > 0.05$ ) (Табл. 8).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) се установява статистически значимо повишение на CD4 в пост-COVID групата спрямо референтната ( $\beta = 0.61$ ;  $e^\beta = 1.84$ ; 95% CI 1.19–2.83;  $p = 0.006$ ), докато при активната инфекция се наблюдава тенденция към повишение без достигане на статистическа значимост ( $\beta = 0.46$ ;  $p = 0.104$ ). Не се установява значима разлика между активната и пост-COVID фазата ( $\beta = -0.15$ ;  $p = 0.596$ ). Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ установява силна положителна зависимост между CD4 и CD8 във всички групи (Група 1:  $r_s = 0.899$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.789$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s$

= 0.799;  $p < 0.001$ ), както и между CD4 и TNF- $\alpha$  (Група 1:  $r_s = 0.971$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.825$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.798$ ;  $p < 0.001$ ). Допълнително, в пост-COVID групата се наблюдава положителна корелация с IL-7 ( $r_s = 0.351$ ;  $p = 0.045$ ), а в контролната група – с NFE2L2 ( $r_s = 0.375$ ;  $p = 0.037$ ) и 8-epi-PGF2 $\alpha$  ( $r_s = 0.544$ ;  $p = 0.023$ ). В групата с активна инфекция се наблюдава отрицателна корелация между CD4 и съотношението C-peptide/Glucose ( $r_s = -0.458$ ;  $p = 0.018$ ).

**CD8.** Нивата на CD8 показват градиентно разпределение между групите, като най-ниски стойности се наблюдават при активна инфекция, междинни при пост-COVID групата и най-високи при COVID-негативните лица с MC (Табл. 8). Въпреки това липсват статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 4.409$ ;  $p = 0.110$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link), обаче, се установява статистически значимо понижени на CD8 при активна SARS-CoV-2 инфекция спрямо контролната група ( $\beta = -0.69$ ;  $e^\beta = 0.50$ ; 95% CI 0.30–0.82;  $p = 0.006$ ), докато при пост-COVID пациентите се отчита несигнификантна тенденция към по-ниски стойности ( $\beta = -0.31$ ;  $p = 0.110$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID фазата не показва статистически значима разлика ( $\beta = -0.40$ ;  $p = 0.102$ ). Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус също не установява статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва силни положителни зависимости между CD8 и CD4 във всички групи (Група 1:  $r_s = 0.899$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.789$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.799$ ;  $p < 0.001$ ), както и между CD8 и TNF- $\alpha$  (Група 1:  $r_s = 0.907$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.699$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.958$ ;  $p < 0.001$ ). При активна инфекция се установяват умерени отрицателни корелации между CD8 и C-пептид ( $r_s = -0.429$ ;  $p = 0.023$ ), както и между CD8 и съотношението C-peptide/Glucose ( $r_s = -0.454$ ;  $p = 0.009$ ). В пост-COVID групата се наблюдават положителни корелации между CD8 и IL-7 ( $r_s = 0.365$ ;  $p = 0.036$ ) и IL-17A ( $r_s = 0.456$ ;  $p = 0.008$ ).

**HCF-D.** Комплементният фактор D (HCF-D) демонстрира най-изразени междугрупови различия, като най-ниски нива се отчитат при пост-COVID групата, междинни при активна инфекция и значително по-високи при COVID-негативните лица с MC (Kruskal–Wallis  $H(2) = 49.274$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът показва значими разлики между активна инфекция и пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 222.0$ ;  $p < 0.001$ ), между активна инфекция и контролите с MC (Mann–Whitney  $U = 136.5$ ;  $p < 0.001$ ), както и между пост-COVID групата и контролите (Mann–Whitney  $U = 40.0$ ;  $p < 0.001$ ) (Табл. 8).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) HCF-D остава значимо понижен както при активна SARS-CoV-2 инфекция спрямо контролите ( $\beta = -1.32$ ;  $e^{\beta} = 0.27$ ; 95% CI 0.09–0.80;  $p = 0.018$ ), така и в пост-COVID периода ( $\beta = -3.53$ ;  $e^{\beta} = 0.03$ ; 95% CI 0.01–0.07;  $p < 0.001$ ), като директното сравнение между активна и пост-COVID фаза показва значимо по-високи нива при активна инфекция ( $\beta = 2.20$ ;  $e^{\beta} = 9.06$ ; 95% CI 3.24–25.31;  $p < 0.001$ ).

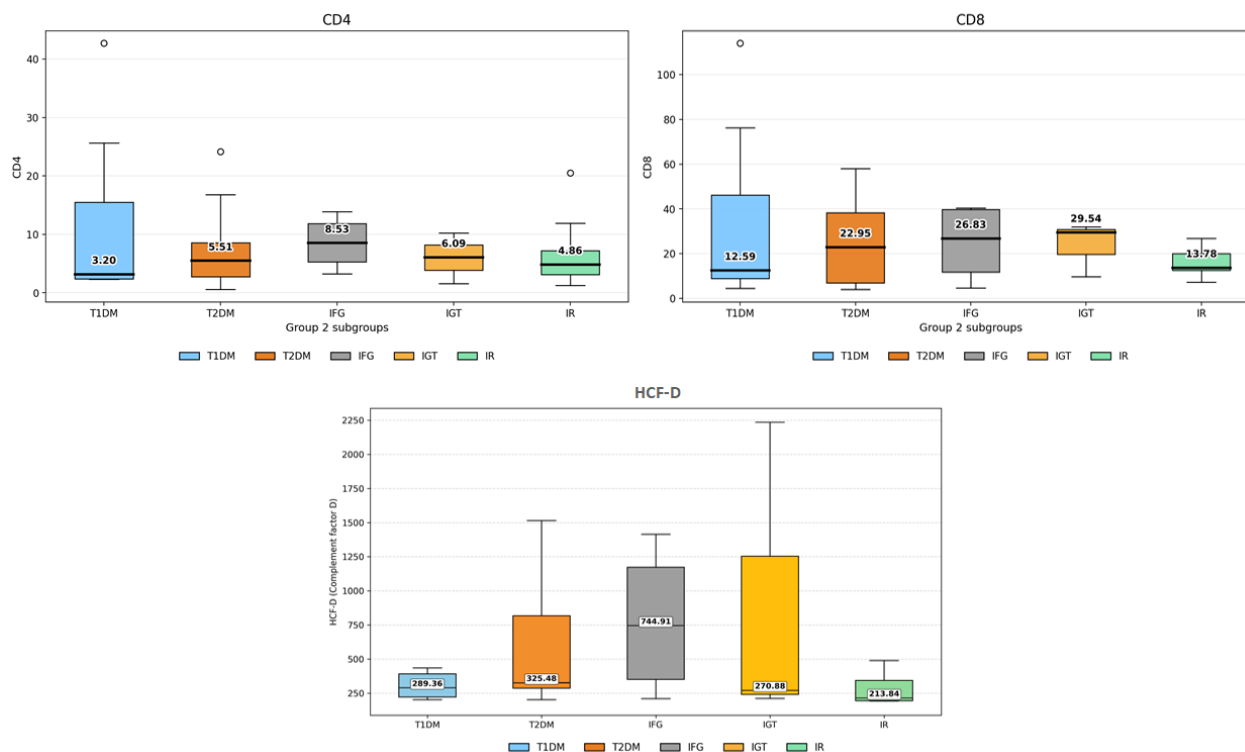
Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия ( $p > 0.05$ ), но при междугруповото сравнение диабетците от пост-COVID групата имат по-ниски нива на HCF-D спрямо диабетците с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 242.0$ ;  $p = 0.003$ ) и спрямо диабетците от контролната група с MC (Mann–Whitney  $U = 2.0$ ;  $p < 0.001$ ). Аналогично, при недиабетците HCF-D е по-нисък в пост-COVID групата спрямо недиабетците с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 32.0$ ;  $p = 0.001$ ) и спрямо недиабетците от контролната група (Mann–Whitney  $U = 13.0$ ;  $p < 0.001$ ).

Корелационният анализ показва при активна инфекция положителни зависимости на HCF-D с IL-7 ( $r_s = 0.436$ ;  $p = 0.021$ ), IL-17A ( $r_s = 0.489$ ;  $p = 0.008$ ) и NFE2L2 ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.028$ ). В пост-COVID групата се установяват положителни корелации с IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.394$ ;  $p = 0.023$ ) и TyG index ( $r_s = 0.387$ ;  $p = 0.038$ ). В контролната група с MC HCF-D корелира положително с NFE2L2 ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.023$ ), LDL-C ( $r_s = 0.458$ ;  $p = 0.011$ ), съотношенията C-peptide/Glucose ( $r_s = 0.455$ ;  $p = 0.033$ ) и Adiponectin/Leptin ( $r_s = 0.361$ ;  $p = 0.038$ ), както и отрицателно с HbA1c ( $r_s = -0.609$ ;  $p = 0.047$ ).

### **Маркери на клетъчно-медирания имунитет и комплементната система при подгрупите с нововъзникнали въглехидратни нарушения (Група 2)**

Анализът на маркерите на клетъчно-медирания имуен отговор (CD4, CD8) и комплементния фактор HCF-D при отделните подгрупи с нововъзникнали ВХ нарушения в рамките на пост-COVID групата не установява статистически значими различия между тях ( $p > 0.05$ ) (Фиг. 10).

Въпреки това, описателните данни показват вариабилност в нивата на изследваните показатели, като при лицата със ЗД тип 1 се отчитат по-високи средни стойности на CD4 и CD8, докато при ЗД тип 2 се наблюдават по-високи средни стойности на HCF-D. Подгрупите с НГТ, НГТ и ИР демонстрират междинни стойности при значително припокриване на диапазоните, което отразява хетерогенност на имунния профил в рамките на пост-COVID групата.



**Фиг. 10.** Разпределение (Median; IQR) на CD4, CD8 и HCF-D в подгрупите на Група 2 - 3Д тип 1/LADA, 3Д тип 2, НГГ, НГТ и ИР.

#### 4. Маркери на оксидативен стрес, антиоксидантна защита и вирус-индуцирана клетъчна хипоксия

Проследяването на маркерите на оксидативен стрес, антиоксидантна защита и вирус-индуцирана клетъчна хипоксия показва хетерогенен профил в трите групи (Табл. 9).

**Оксидативен стрес (8-epi-PGF<sub>2</sub>α).** Установяват се статистически значими междугрупови различия в серумните нива на 8-epi-PGF<sub>2</sub>α (Kruskal–Wallis H(2) = 32.444; p < 0.001), като пост-хок анализът показва значимо по-ниски стойности при лицата с активна инфекция спрямо пост-COVID групата (Mann–Whitney U = 66.0; p < 0.001), както и спрямо COVID-негативните лица с MC (Mann–Whitney U = 17.0; p < 0.001). Допълнително се установява значима разлика между пост-COVID групата и контролите с MC (Mann–Whitney U = 89.5; p = 0.004), като най-високи стойности се регистрират в контролната група (Табл. 9).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) 8-epi-PGF<sub>2</sub>α остава значимо понижен както при активна инфекция спрямо контролите ( $\beta = -0.60$ ;  $e^\beta = 0.55$ ; 95% CI 0.38–0.78; p < 0.001), така и в пост-COVID групата ( $\beta = -0.29$ ;  $e^\beta = 0.75$ ; 95% CI 0.57–

0.98;  $p = 0.036$ ), като сравнението между активна и пост-COVID фаза показва гранично статистически значима разлика ( $\beta = -0.32$ ;  $e^{\beta} = 0.73$ ; 95% CI 0.54–1.00;  $p = 0.051$ ).

**Табл. 9. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на маркери на оксидативен стрес (8-epi-PGF2 $\alpha$ ), антиоксидантна защита (NFE2L2) и клетъчна хипоксия (HIF-1 $\alpha$ ) [pg/mL]**

| Показател                            | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*)   | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*)   | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test  |
|--------------------------------------|---|--|---|-----------------------------|
| <b>8-epi-PGF2<math>\alpha</math></b> | 46.74 $\pm$ 3.91<br>44.17 (3.86)          | 62.64 $\pm$ 8.47<br>58.06 (12.92)      | 85.81 $\pm$ 28.41<br>69.96 (21.30)      | $H = 32.444$<br>$p < 0.001$ |
| <b>NFE2L2</b>                        | 229.21 $\pm$ 69.04<br>227.00 (77.05)      | 244.86 $\pm$ 330.49<br>172.00 (100.42) | 220.53 $\pm$ 104.53<br>214.00 (153.11)  | $H = 3.584$<br>$p = 0.167$  |
| <b>HIF-1<math>\alpha</math></b>      | 1321.51 $\pm$ 1224.92<br>1035.67 (796.09) | 358.76 $\pm$ 478.73<br>212.22 (220.37) | 558.87 $\pm$ 458.98<br>373.97 (558.87)  | $H = 32.974$<br>$p < 0.001$ |

\*  $n$  – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия в група 1 ( $p > 0.05$ ). В група 2 се отчита значимо по-високо ниво при жените спрямо мъжете (Mann–Whitney  $U = 38.0$ ;  $p = 0.012$ ), без разлика по диабетен статус ( $p > 0.05$ ). В група 3 се установява значима разлика между диабетици и недиабетици (Mann–Whitney  $U = 3.0$ ;  $p = 0.027$ ).

При междугрупово сравнение диабетиците от пост-COVID групата имат по-високи нива спрямо диабетиците с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 17.0$ ;  $p = 0.003$ ), а недиабетиците от пост-COVID групата също се различават значимо от недиабетиците с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 15.0$ ;  $p = 0.003$ ) и от недиабетиците в контролната група (Mann–Whitney  $U = 3.0$ ;  $p < 0.001$ ).

Корелационният анализ показва при пост-COVID групата положителна зависимост между 8-epi-PGF2 $\alpha$  и глюкоза на гладно ( $r_s = 0.480$ ;  $p = 0.028$ ). В контролната група с МС се установяват положителни корелации с LDL-C ( $r_s = 0.536$ ;  $p = 0.027$ ), CD4 ( $r_s = 0.544$ ;  $p = 0.023$ ) и съотношението Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.525$ ;  $p = 0.044$ ).

**Антиоксидантна защита (NFE2L2).** Установяват се сходни серумни нива на NFE2L2 в трите групи, при липса на статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 3.584$ ;  $p = 0.167$ ), като пост-хок анализ също не отчита значими разлики между отделните двойки групи ( $p > 0.05$ ) (Табл. 9).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установява значима разлика нито при активна инфекция спрямо контролната група с МС ( $\beta = -0.13$ ;  $p = 0.632$ ), нито в пост-COVID периода спрямо контролите ( $\beta = 0.00$ ;  $p = 0.991$ ), както и между активна и пост-COVID фаза ( $\beta = -0.13$ ;  $p = 0.607$ ).

Вътрегрупов анализ по пол и диабетен статус не установява статистически значими различия във всяка от трите групи ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ установява при активна инфекция (Група 1) положителни зависимости на NFE2L2 с IL-7 ( $r_s = 0.439$ ;  $p = 0.019$ ), HCF-D ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.023$ ), ASAT ( $r_s = 0.541$ ;  $p = 0.005$ ) и ALAT ( $r_s = 0.541$ ;  $p = 0.005$ ). В пост-COVID групата (Група 2) NFE2L2 корелира положително с IL-17A ( $r_s = 0.367$ ;  $p = 0.038$ ) и отрицателно с инсулин ( $r_s = -0.401$ ;  $p = 0.025$ ). В контролната група с МС (Група 3) се установяват положителни корелации на NFE2L2 с CD4 ( $r_s = 0.375$ ;  $p = 0.037$ ), IL-10 ( $r_s = 0.381$ ;  $p = 0.034$ ), IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.416$ ;  $p = 0.019$ ), IL-17A ( $r_s = 0.431$ ;  $p = 0.015$ ) и HCF-D ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.023$ ).

**Клетъчна хипоксия (HIF-1 $\alpha$ ).** Най-високи серумните нива на HIF-1 $\alpha$  са регистрирани в острата фаза (Група 1), най-ниски в пост-COVID групата (Група 2) и междинни при COVID-негативните лица с МС (Група 3) (Табл. 9).

Установяват се статистически значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 32.974$ ;  $p < 0.001$ ), като пост-хок анализът показва значими разлики между всички двойки групи – между Група 1 и Група 2 (Mann–Whitney  $U = 123.0$ ;  $p < 0.001$ ), между Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 199.0$ ;  $p < 0.001$ ), както и между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 273.5$ ;  $p = 0.001$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link), обаче, HIF-1 $\alpha$  не се различава значимо при активна инфекция спрямо контролната група ( $\beta = -0.03$ ;  $p = 0.929$ ), докато в пост-COVID периода е значимо понижен спрямо контролите ( $\beta = -0.54$ ;  $e^\beta = 0.58$ ; 95% CI 0.36–0.94;  $p = 0.026$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID фазата показва несигнификантна тенденция към по-високи нива при активна инфекция ( $\beta = 0.52$ ;  $p = 0.089$ ).

Вътрегруповият анализ по пол и диабетен статус не установява значими различия в групи 1 и 2 ( $p > 0.05$ ), но в Група 3 диабетичите имат значимо по-високи нива спрямо недиабетиците (Mann–Whitney  $U = 163.0$ ;  $p = 0.030$ ).

При междугруповото сравнение по диабетен статус диабетците от Група 1 се различават значимо от диабетците в Група 2 (Mann–Whitney  $U = 284.0$ ;  $p < 0.001$ ), а диабетците от Група 2 – и от тези в Група 3 (Mann–Whitney  $U = 41.0$ ;  $p = 0.007$ ); при недиабетците се установява значима разлика между Група 1 и Група 2 (Mann–Whitney  $U = 152.0$ ;  $p = 0.010$ ).

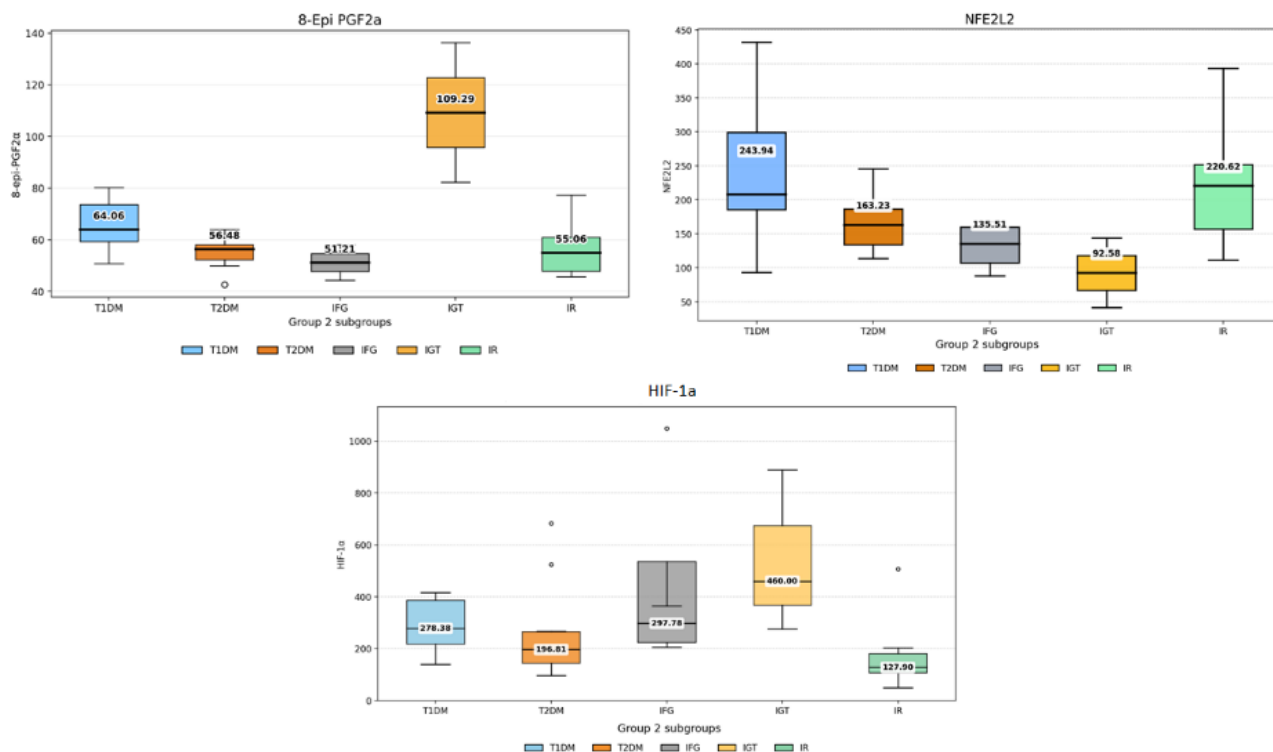
Корелационният анализ показва положителна зависимост между възрастта и HIF-1 $\alpha$  и в трите групи (Група 1:  $r_s = 0.521$ ;  $p = 0.004$ ; Група 2:  $r_s = 0.433$ ;  $p = 0.01$ ; Група 3:  $r_s = 0.640$ ;  $p < 0.001$ ). При активна инфекция (Група 1) HIF-1 $\alpha$  корелира положително с IL-10 ( $r_s = 0.425$ ;  $p = 0.024$ ). В пост-COVID групата (Група 2) HIF-1 $\alpha$  корелира положително с глюкоза ( $r_s = 0.347$ ;  $p = 0.048$ ), HbA1c ( $r_s = 0.426$ ;  $p = 0.043$ ), глюкагон ( $r_s = 0.467$ ;  $p = 0.005$ ) и HOMA-IR ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.023$ ), както и отрицателно с QUICKI ( $r_s = -0.415$ ;  $p = 0.023$ ). В референтната група с MC (Група 3) се установяват значими корелации на HIF-1 $\alpha$  с BMI ( $r_s = 0.417$ ;  $p = 0.020$ ), TG ( $r_s = 0.357$ ;  $p = 0.048$ ), пикочна киселина ( $r_s = 0.592$ ;  $p = 0.002$ ), HDL-C ( $r_s = -0.433$ ;  $p = 0.015$ ), TyG index ( $r_s = 0.489$ ;  $p = 0.005$ ), съотношението TG/HDL-C ( $r_s = 0.453$ ;  $p = 0.011$ ), METS-IR ( $r_s = 0.490$ ;  $p = 0.005$ ), глюкагон ( $r_s = 0.542$ ;  $p = 0.011$ ), GP-73 ( $r_s = 0.514$ ;  $p = 0.024$ ) и адипонектин ( $r_s = -0.460$ ;  $p = 0.041$ ).

#### **Подгрупов анализ на маркерите на оксидативен стрес, антиоксидантна защита и хипоксичен отговор в пост-COVID групата**

При подгрупов анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) не се установяват статистически значими различия в нивата на 8-Epi-PGF-2 $\alpha$  между отделните подгрупи според типа нововъзникнало ВХ нарушение (Kruskal–Wallis  $H(3) = 8.96$ ;  $p = 0.062$ ), въпреки наблюдаваните описателни вариации (Фиг. 11).

За разлика от това, нивата на NFE2L2 се различават статистически значимо между подгрупите (Kruskal–Wallis  $H(3) = 11.0137$ ;  $p = 0.026$ ), като пост-хок анализът показва значима разлика единствено между подгрупата със ЗД тип 1/LADA и обединената подгрупа на предиабетните състояния (НГГ+НГТ) (Mann–Whitney  $U = 44.0$ ;  $p = 0.008$ ).

Паралелно с това, в рамките на същата група се установяват и статистически значими различия в нивата на HIF-1 $\alpha$  (Kruskal–Wallis  $H(3) = 12.30$ ;  $p = 0.015$ ), като пост-хок анализът демонстрира значима разлика между подгрупата с ИР и обединената подгрупа с предиабет (НГГ+НГТ) (Mann–Whitney  $U = 5.0$ ;  $p = 0.003$ ).



**Фиг. 11.** Разпределение (Median; IQR) на маркерите на оксидативен стрес (8-Epi-PGF-2 $\alpha$ ), антиоксидантна защита (NFE2L2) и хипоксия (HIF-1 $\alpha$ ) в подгрупите на Група 2 - 3Д тип 1/LADA, 3Д тип 2, НГГ, НГТ и ИР.

## 5. Оценка на глюкозната хомеостаза в острата фаза на COVID-19 и в безсимптомния пост-COVID период, чрез анализ на панкреасната $\alpha$ - и $\beta$ -клетъчна функция, инсулиновата секреция и инсулиновата чувствителност

### 5.1. Основни параметри на глюкозната хомеостаза

**Кръвна захар (КЗ) на гладно.** При лицата от трите основни групи бяха проследени нивата на плазмената глюкоза на гладно, като при пациентите с активна коронавирусна инфекция (Група 1) измерванията са извършени преди започване на ГКС терапия.

Най-високи средни стойности се установяват при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2:  $7.64 \pm 3.69$  mmol/L), следвани от лицата с активна инфекция (Група 1:  $7.37 \pm 1.81$  mmol/L), докато най-ниски стойности се регистрират при неболедувалите лица с МС (Група 3:  $5.69 \pm 1.76$  mmol/L). Анализът на медианите потвърждава същата тенденция, като най-голяма вариабилност (IQR = 4.1 mmol/L) се наблюдава в пост-COVID групата (Група 2).

Непараметричният анализ установява статистически значими различия между трите групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 17.96$ ;  $p < 0.001$ ). При пост-хок сравнение се доказват сигнификантни разлики между Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 840.0$ ;  $p < 0.001$ ),

както и между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 745.5$ ;  $p = 0.010$ ), докато разликата между Група 1 и Група 2 не достига статистическа значимост ( $p > 0.05$ ).

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за пол и възраст, показват, че при активна инфекция нивата на КЗ на гладно не се различават значимо от тези при лицата с МС ( $\beta = 0.11$ ;  $p = 0.589$ ). За разлика от това, преболедувалите лица демонстрират статистически значимо по-високи нива спрямо контролната група ( $\beta = 0.21$ ;  $e^{\beta} = 1.23$ ; 95% CI: 1.08–1.51;  $p = 0.004$ ), което съответства на приблизително 23% повишение. Сравнението между активната и пост-COVID групата показва гранична тенденция към по-ниски стойности при активна инфекция ( $\beta = -0.10$ ;  $e^{\beta} = 0.90$ ; 95% CI: 0.68–1.01;  $p = 0.061$ ).

При вътрегрупов анализ по пол не се установяват статистически значими различия в нито една от групите ( $p > 0.05$ ). По отношение на диабетния статус, в Група 2 диабетиците демонстрират сигнификантно по-високи нива на КЗ на гладно спрямо недиабетиците (Mann–Whitney  $U = 238.0$ ;  $p < 0.001$ ), като аналогична зависимост се установява и в Група 3 (Mann–Whitney  $U = 199.5$ ;  $p = 0.003$ ). В Група 1 разликата между диабетици и недиабетици не достига статистическа значимост ( $p > 0.05$ ).

В Група 1 при 43.75% от лицата се регистрират стойности  $\geq 7.0$  mmol/L, а при 6.25% –  $\geq 11.1$  mmol/L, като стрес-индуцирана хипергликемия се установява при 12.5% от пациентите. В Група 2 31.43% имат КЗ  $\geq 7.0$  mmol/L и 14.28%  $\geq 11.1$  mmol/L, докато в Група 3 тези стойности са съответно 12.12% и 3.03%.

Корелационният анализ разкрива в пост-COVID групата умерена положителна корелация между КЗ на гладно и IL-10 ( $r_s = 0.369$ ;  $p = 0.034$ ). В референтната група с МС плазмената глюкоза на гладно корелира положително с ИТМ ( $r_s = 0.444$ ;  $p = 0.010$ ), базален инсулин ( $r_s = 0.531$ ;  $p = 0.006$ ) и лептин ( $r_s = 0.512$ ;  $p = 0.025$ ), както и с индексите за ИР – НОМА-IR ( $r_s = 0.707$ ;  $p < 0.001$ ), TyG index ( $r_s = 0.754$ ;  $p < 0.001$ ), съотношението TG/HDL-C ( $r_s = 0.465$ ;  $p = 0.006$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.537$ ;  $p = 0.001$ ), и отрицателно с QUICKI ( $r_s = -0.707$ ;  $p < 0.001$ ) и съотношението Adiponectin/Leptin ( $r_s = -0.549$ ;  $p = 0.022$ ).

При лицата от група 4 е извършено динамично проследяване на гликемичния профил по време на болничния престой, включващо КЗ при постъпване, средна, максимална, минимална стойност на КЗ и гликемична вариабилност ( $\Delta KZ = \max - \min KZ$ ) (Табл. 10).

**Табл. 10. Показатели, отразяващи гликемичния профил при лицата от Група 4 (хоспитализирани лица с активна коронавирусна инфекция, n = 135)**

| Показател                  | Mean ± SD    | Median | Диапазон (min–max) |
|----------------------------|--------------|--------|--------------------|
| КЗ при постъпване [mmol/L] | 8.39 ± 4.41  | 7.05   | 4.17 – 32.73       |
| Средна КЗ [mmol/L]         | 8.43 ± 3.01  | 7.56   | 4.52 – 18.89       |
| Максимална КЗ [mmol/L]     | 11.78 ± 6.24 | 9.60   | 4.69 – 36.40       |
| Минимална КЗ [mmol/L]      | 5.59 ± 1.45  | 5.50   | 2.70 – 12.10       |
| ΔКЗ (max–min) [mmol/L]     | 6.25 ± 6.40  | 4.06   | 0 – 29.10          |

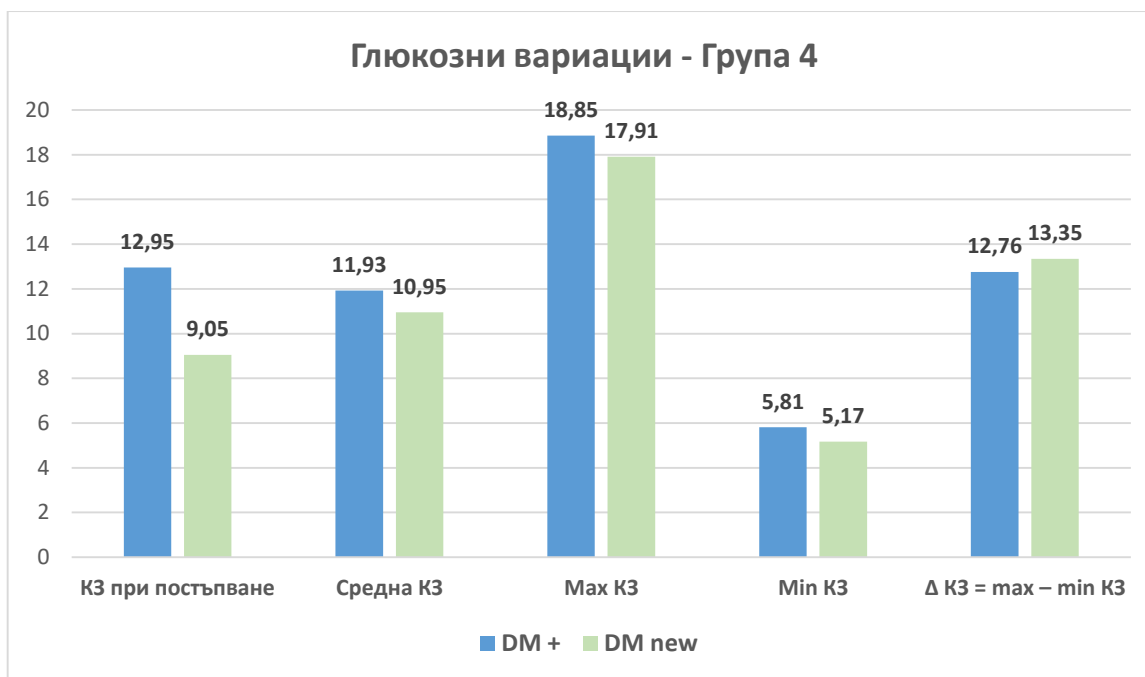
**Забележка:** ΔКЗ = разлика между максималната и минималната измерена стойност на кръвната захар по време на болничния престой.

**КЗ при постъпване** е повишена при значителна част от пациентите, като стойности над 10.0 mmol/L се регистрират при 15.5% от случаите. Диабетиците демонстрират статистически значимо по-високи стойности при постъпване в сравнение с недиабетиците (Mann–Whitney U = 801.5; p < 0.001). КЗ при постъпване корелира положително с CRP ( $r_s = 0.282$ ; p = 0.001) и със TyG index ( $r_s = 0.604$ ; p < 0.001).

**Средната КЗ** по време на хоспитализацията корелира с тежестта на инфекцията ( $r_s = 0.327$ ; p = 0.001) и със TyG index ( $r_s = 0.416$ ; p = 0.001). **Максималните стойности** на гликемията са значимо по-високи при диабетиците (Mann–Whitney U = 186.0; p < 0.001) и също корелират с тежестта на инфекцията ( $r_s = 0.326$ ; p = 0.001) и с TyG index ( $r_s = 0.390$ ; p = 0.001). **Минималните стойности** не се различават статистически значимо по пол или диабетен статус (p > 0.05).

**Гликемичната вариабилност (ΔКЗ)** е значимо по-изразена при диабетиците в сравнение с недиабетиците (Mann–Whitney U = 221.0; p < 0.001) и корелира както с тежестта на инфекцията ( $r_s = 0.326$ ; p = 0.001), така и със TyG index ( $r_s = 0.379$ ; p = 0.001).

При сравнение между лицата с известен и новооткрит ЗД не се установяват статистически значими различия по отношение на основните показатели на глюкозната вариабилност (p > 0.05), въпреки тенденцията към по-голяма нестабилност при новодиагностицираните случаи (Фиг. 12).



**Фиг. 12.** Проследяване на вариациите в нивата на гликемия (mean) при лицата с вече известен ЗД (DM+) и тези с новооткрит ЗД (DM new) от група 4 (изходна група лица с активна коронавирусна инфекция, n = 42)

**НbA1c.** Не се установяват статистически значими междугрупови различия в нивата на НbA1c (Kruskal–Wallis  $H(2) = 3.64$ ;  $p = 0.162$ ), въпреки наблюдаваната тенденция към по-високи стойности при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Табл. 11).

**Табл. 11.** Серумни нива на НbA1c [%] в изследваните групи (Mean ± SD; Median (IQR))

| Показател | Група 1 – Активен COVID (n = 18*) | Група 2 – Пост-COVID (n = 23*) | Група 3 – COVID(-) с МС (n = 18*) | Kruskal–Wallis Test       |
|-----------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| НbA1c [%] | 6.33 ± 0.83<br>6.23 (1.57)        | 8.00 ± 2.69<br>7.20 (5.10)     | 7.04 ± 1.40<br>6.61 (2.57)        | $H = 3.64$<br>$p = 0.162$ |

\* n – броят на изследваните лица варира поради липсващи лабораторни данни.

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за възраст и пол, показват липса на значима разлика между лицата с активна инфекция и контролната група с МС ( $\beta = -0.11$ ;  $p = 0.087$ ), както и между преболедувалите лица и контролната група ( $\beta = 0.19$ ;  $p = 0.284$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID фазата установява значимо по-ниски стойности при активна инфекция ( $\beta = -0.21$ ;  $e^{\beta} = 0.81$ ; 95% CI 0.60–0.93;  $p = 0.008$ ).

Вътрегруповият анализ показва статистически значимо по-високи нива на НbA1c при диабетиците спрямо недиабетиците в група 1 (Mann–Whitney  $U = 48.5$ ;  $p = 0.033$ ) и в

група 2 (Mann–Whitney  $U = 112.0$ ;  $p < 0.001$ ), без достигане на значимост в група 3 ( $p > 0.05$ ). При междугрупово сравнение диабетиците от група 2 демонстрират значимо по-високи стойности спрямо диабетиците от група 1 (Mann–Whitney  $U = 32.0$ ;  $p < 0.001$ ).

Подгруповият анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) показва наличие на статистически значими различия в нивата на HbA1c между отделните типове нововъзникнали ВХ нарушения (Kruskal–Wallis  $H(3) = 19.6238$ ;  $p < 0.001$ ) (Табл. 12).

При проведения пост-хок анализ се установява, че статистически значими разлики са налице единствено между подгрупите със ЗД тип 1 и ЗД тип 2 (Mann–Whitney  $U = 1.0$ ;  $p = 0.001$ ), както и между подгрупите със ЗД тип 2 и ИР (Mann–Whitney  $U = 40.0$ ;  $p = 0.004$ ) и между ЗД тип 1 и ИР (Mann–Whitney  $U = 40.0$ ;  $p = 0.004$ ). Между останалите подгрупи не се установяват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

**Табл. 12. Нива ( $Mean \pm SD$ ; Median (IQR)) на HbA1c при отделните подгрупи от група 2**

| Показател | ЗД тип 1<br>(n = 8)              | ЗД тип 2<br>(n = 8)            | НГГ<br>(n = 1)   | НГТ<br>(n = 1)   | ИР<br>(n = 5)                  | Kruskal–Wallis Test         |
|-----------|----------------------------------|--------------------------------|------------------|------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| HbA1c [%] | 11.11 $\pm$ 1.85<br>11.26 (5.64) | 7.21 $\pm$ 0.69<br>7.06 (2.06) | 5.70<br>5.70 (–) | 5.80<br>5.80 (–) | 5.19 $\pm$ 0.58<br>5.29 (0.60) | $H = 19.624$<br>$p < 0.001$ |

Корелационният анализ разкрива, че в група 1 HbA1c корелира положително с проинсулин ( $r_s = 0.499$ ;  $p = 0.035$ ) и с КЗ на гладно ( $r_s = 0.426$ ;  $p = 0.043$ ). В група 2 се установяват положителни корелации между HbA1c и IL-10 ( $r_s = 0.510$ ;  $p = 0.012$ ), както и между HbA1c и HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.426$ ;  $p = 0.043$ ). В същата група се регистрира силна отрицателна корелация между HbA1c и НОМА-В ( $r_s = -0.818$ ;  $p < 0.001$ ), както и положителна корелация с TyG index ( $r_s = 0.528$ ;  $p = 0.012$ ). В подгрупата с нормогликемия и ИР/хиперинсулинемия се установява силна положителна корелация между HbA1c и IL-10 ( $r_s = 0.946$ ;  $p < 0.001$ ).

**Честота на новооткрит ЗД при активен COVID-19.** Новооткрит ЗД се регистрира при 11.98% от пациентите с активна инфекция (21.87% в Група 1 и 9.63% в Група 4).

## 5.2. Анализ на панкреасната $\alpha$ - и $\beta$ -клетъчна функция

### 5.2.1. Алфа ( $\alpha$ )-клетъчна функция – глюкагон

При анализа на нивата на глюкагон в трите изследвани групи се установяват отчетливи междугрупови различия (Табл. 13). Най-високи стойности се регистрират при

неболедувалите лица с МС (Група 3), най-ниски – при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2), докато лицата с активна коронавирусна инфекция (Група 1) заемат междинно положение.

**Табл. 13. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на Глюкагон [pg/mL], Инсулин [ $\mu$ U/mL], С-пептид [ng/mL] и Проинсулин [pg/mL]**

| Показател         | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*)    | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*)        | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*)    | Kruskal–<br>Wallis<br>Test |
|-------------------|--|---|--|----------------------------|
| <b>Глюкагон</b>   | 6456.68 $\pm$ 2391.16<br>5782.69 (3725.04) | 5403.88 $\pm$ 1999.43<br>4893.64 (2 350.28) | 8152.59 $\pm$ 1492.96<br>7847.44 (2593.63) | $H = 21.91$<br>$p < 0.001$ |
| <b>Инсулин</b>    | 26.19 $\pm$ 16.52<br>25.90 (27.19)         | 20.11 $\pm$ 19.50<br>14.54 (9.27)           | 31.86 $\pm$ 62.38<br>14.53 (19.07)         | $H = 3.67$<br>$p = 0.159$  |
| <b>С-пептид</b>   | 1.21 $\pm$ 1.21<br>0.70 (1.39)             | 1.536 $\pm$ 1.30<br>1.32 (1.92)             | 0.415 $\pm$ 0.605<br>0.24 (0.38)           | $H = 19.65$<br>$p < 0.001$ |
| <b>Проинсулин</b> | 56.03 $\pm$ 34.14<br>50.21 (62.27)         | 41.55 $\pm$ 39.98<br>29.81 (24.98)          | 54.22 $\pm$ 52.37<br>34.08 (52.86)         | $H = 3.835$<br>$p = 0.147$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

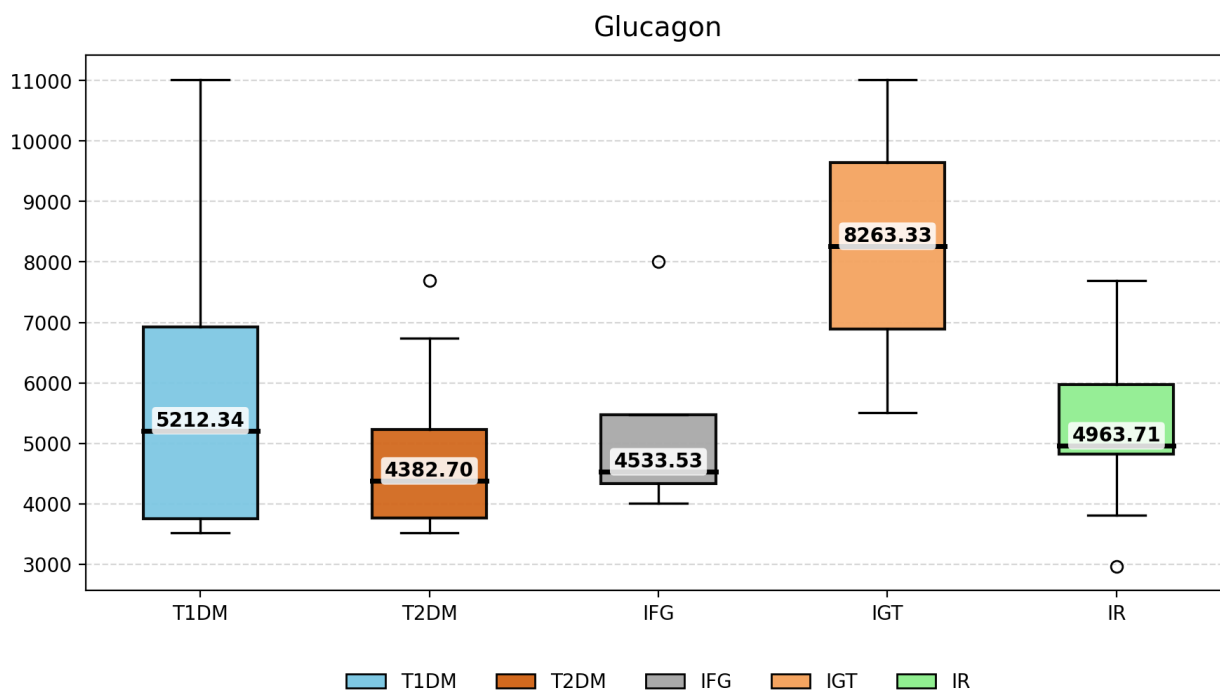
Непараметричният анализ показва наличие на статистически значими различия между трите групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 21.909$ ;  $p < 0.001$ ). При пост-хок анализа не се установява значима разлика между групи 1 и 2 (Mann–Whitney  $U = 306.0$ ;  $p = 0.068$ ). За сметка на това се установяват статистически значими различия както между групи 1 и 3 (Mann–Whitney  $U = 126.5$ ;  $p = 0.003$ ), така и между групи 2 и 3 (Mann–Whitney  $U = 95.0$ ;  $p < 0.001$ ).

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за пол и възраст, показват, че нивата на глюкагон са статистически значимо по-ниски както при лицата с активна инфекция ( $\beta = -0.40$ ;  $e^{\beta} = 0.67$ ; 95% CI: 0.49–0.92;  $p = 0.014$ ), така и при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения ( $\beta = -0.39$ ;  $e^{\beta} = 0.68$ ; 95% CI: 0.51–0.90;  $p = 0.008$ ) в сравнение с референтната група с МС. Директното сравнение между активната и пост-COVID фазата не разкрива статистически значима разлика ( $\beta = -0.01$ ;  $e^{\beta} = 0.99$ ; 95% CI: 0.74–1.32;  $p = 0.913$ ).

Вътрегруповият анализ не установява статистически значими различия в нивата на глюкагон според пола или диабетния статус във всяка от трите групи ( $p > 0.05$ ). При междгрупово сравнение според диабетния статус се установява, че диабетиците от група 3 имат статистически значимо по-високи нива на глюкагон в сравнение с диабетиците от група 2 (Mann–Whitney  $U = 16.0$ ;  $p = 0.001$ ). Аналогично, и при недиабетиците нивата

в група 3 са значимо по-високи в сравнение с тези в група 2 (Mann–Whitney  $U = 32.5$ ;  $p < 0.001$ ).

При подгрупов анализ в рамките на пост-COVID групата (Фиг. 13) не се установяват статистически значими различия в нивата на глюкагон между отделните фенотипни подгрупи според типа ВХ нарушение (Kruskal–Wallis  $H(3) = 3.68$ ;  $p > 0.05$ ).



**Фиг. 13.** Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на глюкагон в подгрупите на Група 2 - 3Д тип 1/LADA, 3Д тип 2, НГГ, НГТ и ИР

Корелационният анализ показва статистически значими положителни корелации между глюкагон и CD4 в група 1 ( $r_s = 0.399$ ;  $p = 0.023$ ) и група 2 ( $r_s = 0.387$ ;  $p = 0.028$ ). В група 2 се установява положителна корелация между глюкагон и HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.467$ ;  $p = 0.005$ ), както и с адипонектин ( $r_s = 0.398$ ;  $p = 0.020$ ). В група 3 глюкагон корелира положително с HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.542$ ;  $p = 0.011$ ) и GP-73 ( $r_s = 0.599$ ;  $p = 0.011$ ).

### 5.2.2. Бета ( $\beta$ )-клетъчна функция

**Инсулин.** При анализа на нивата на базален инсулин в трите изследвани групи се установява, че най-високи средни стойности се отчитат при лицата от референтната група с МС (Група 3), най-ниски – при преболедувалите COVID-19 с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2), докато лицата с активна коронавирусна инфекция (Група 1) заемат междинно положение. Анализът на медианните стойности показва различно

разпределение, като най-високи медианни нива се регистрират при активната инфекция (Табл. 13).

Непараметричният анализ не установява статистически значими различия между трите групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 3.67$ ;  $p = 0.159$ ).

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за пол и възраст, обаче показват, че нивата на инсулин са статистически значимо по-ниски както при лицата с активна коронавирусна инфекция ( $\beta = -0.48$ ;  $e^\beta = 0.62$ ; 95% CI: 0.39–0.99;  $p = 0.045$ ), така и при преболелите лица ( $\beta = -0.52$ ;  $e^\beta = 0.59$ ; 95% CI: 0.37–0.94;  $p = 0.027$ ) в сравнение с контролната група с МС. Директното сравнение между активната и пост-COVID групата не показва статистически значима разлика ( $\beta = 0.04$ ;  $e^\beta = 1.04$ ; 95% CI: 0.49–2.20;  $p = 0.913$ ).

Вътрегруповият анализ не установява статистически значими различия в нивата на инсулин според пола или диабетния статус във всяка от трите групи ( $p > 0.05$ ). При междгрупово сравнение на съответните подгрупи отново не се установяват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

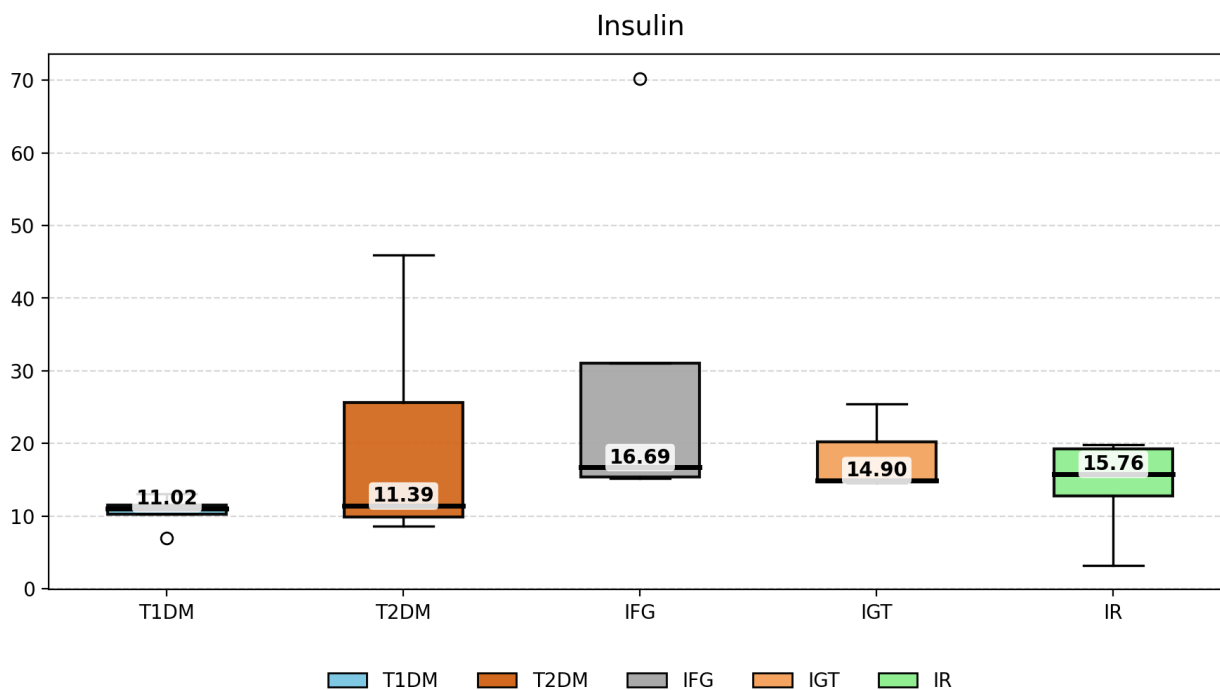
При подгрупов анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) се установява статистически значима разлика между подгрупата със ЗД тип 1 и обединената подгрупа с предиабет (НГГ + НГТ) (Mann–Whitney  $U = 0$ ;  $p = 0.0025$ ), докато между останалите подгрупи не се откриват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ) (Фиг. 14).

Корелационният анализ показва, че в група 1 инсулинът корелира положително с НОМА-В ( $r_s = 0.866$ ;  $p < 0.001$ ), НОМА-IR ( $r_s = 0.960$ ;  $p < 0.001$ ) и съотношението Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.756$ ;  $p < 0.001$ ), както и отрицателно с QUICKI ( $r_s = -0.953$ ;  $p < 0.001$ ).

В група 2 се установяват положителни корелации с НОМА-В ( $r_s = 0.697$ ;  $p < 0.001$ ), НОМА-IR ( $r_s = 0.697$ ;  $p < 0.001$ ) и съотношението Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.521$ ;  $p = 0.003$ ), както и отрицателна корелация с QUICKI ( $r_s = -0.697$ ;  $p < 0.001$ ). Установява се и умерена отрицателна корелация между инсулин и NFE2L2 ( $r_s = -0.401$ ;  $p = 0.025$ ).

В група 3 инсулинът корелира положително с ИТМ ( $r_s = 0.552$ ;  $p = 0.004$ ), глюкоза ( $r_s = 0.531$ ;  $p = 0.006$ ), проинсулин ( $r_s = 0.860$ ;  $p < 0.001$ ), GLP-1 ( $r_s = 0.794$ ;  $p < 0.001$ ), лептин ( $r_s = 0.745$ ;  $p < 0.001$ ), НОМА-В ( $r_s = 0.746$ ;  $p < 0.001$ ), НОМА-IR ( $r_s = 0.969$ ;  $p < 0.001$ ), съотношенията Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.637$ ;  $p = 0.003$ ) и Proinsulin/C-peptide ( $r_s = 0.600$ ;  $p$

= 0.018), TyG index ( $r_s = 0.476$ ;  $p = 0.016$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.500$ ;  $p = 0.011$ ), както и отрицателно с QUICKI ( $r_s = -0.969$ ;  $p < 0.001$ ) и съотношението Adiponectin/Leptin ( $r_s = -0.739$ ;  $p = 0.002$ ).



**Фиг. 14.** Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на инсулин в подгрупите на Група 2 - 3Д тип 1/LADA, 3Д тип 2, НГГ, НГТ и ИР

**С-пептид (C-peptide).** Проследени са базалните нива на С-пептид в трите изследвани групи. Най-високи средни и медианни стойности се установяват при преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2), следвани от лицата с активна коронавирусна инфекция (Група 1), докато най-ниски нива се отчитат при неболедувалите лица с МС (Група 3) (Табл. 13).

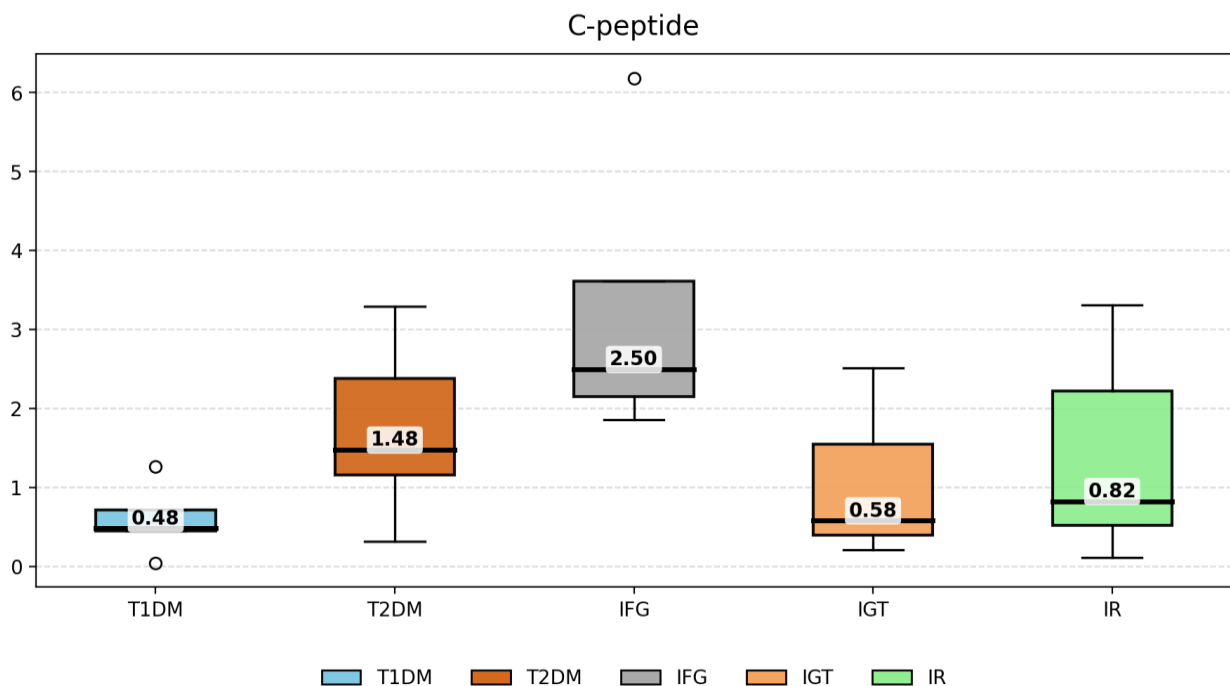
Непараметричният анализ показва статистически значими различия между трите групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 19.65$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът установява значими разлики между Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 581.0$ ;  $p = 0.001$ ), както и между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 667.5$ ;  $p < 0.001$ ), докато между Група 1 и Група 2 не се откриват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за пол и възраст, потвърждават изразено и статистически значимо повишение на С-пептид както при активен COVID-19, така и в пост-COVID периода спрямо контролната група с МС: при Група 1 – около 4.6-кратно увеличение ( $\beta = 1.53$ ;  $e^\beta = 4.62$ ; 95% CI: 1.91–7.53;  $p <$

0.001), а при Група 2 – над 6-кратно увеличение ( $\beta = 1.86$ ;  $e^\beta = 6.42$ ; 95% CI: 2.96–9.02;  $p < 0.001$ ). Не се установява значима разлика между активната и пост-COVID фазата ( $\beta = -0.33$ ;  $p = 0.336$ ), което показва персистиране на повишената ендогенна секреция и след отзвучаване на острата фаза (при отчитане на строгата селекция на лицата от Група 2).

Вътрегруповият анализ не установява статистически значими различия в нивата на С-пептид според пола или диабетния статус в трите групи ( $p > 0.05$ ). При междгрупово сравнение по диабетен статус диабетниците от Група 2 демонстрират по-високи нива на С-пептид спрямо диабетниците от Група 3 (Mann–Whitney  $U = 69.0$ ;  $p = 0.015$ ). При недиабетиците най-високи нива се установяват в Група 1, като те се отличават значимо от недиабетиците в Група 3 (Mann–Whitney  $U = 255.0$ ;  $p < 0.001$ ); значими различия се наблюдават и между недиабетиците в Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 264.0$ ;  $p < 0.001$ ).

При подгрупов анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) се установяват статистически значими различия между подгрупите според типа нововъзникнало ВХ нарушение (Kruskal–Wallis  $H(3) = 9.80$ ;  $p = 0.044$ ). Най-ниски стойности се регистрират при лицата със ЗД тип 1, като те се отличават значимо от подгрупата със ЗД тип 2 (Mann–Whitney  $U = 54.0$ ;  $p = 0.007$ ) (Фиг. 15).



**Фиг. 15.** Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на С-пептид в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР

Корелационният анализ показва слаба отрицателна корелация между С-пептид и CD8 в Група 1 ( $r_s = -0.429$ ;  $p = 0.023$ ). И в трите групи се установяват силни положителни корелации между С-пептид и съотношението С-peptide/Glucose (Група 1:  $r_s = 0.963$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.931$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.962$ ;  $p < 0.001$ ), както и отрицателни корелации със съотношението Proinsulin/C-peptide (Група 1:  $r_s = -0.771$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.827$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.593$ ;  $p = 0.020$ ). В Група 3 се установява и отрицателна корелация с адипонектин ( $r_s = -0.604$ ;  $p = 0.008$ ).

**Проинсулин (Proinsulin).** Проследени са серумните нива на проинсулин в трите групи (Табл. 13). Най-високи средни и медианни стойности се установяват при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1), а най-ниски – при преболедевалите (Група 2), докато неболедевалите с МС (Група 3) заемат междинно положение.

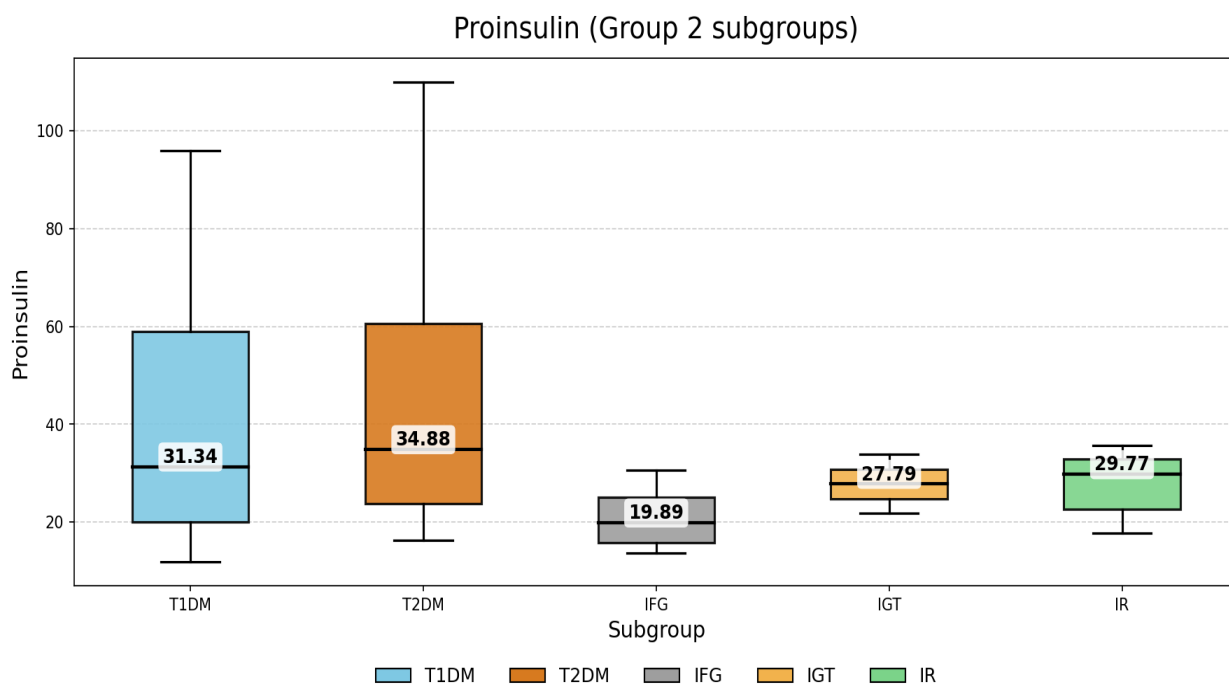
Междугруповите различия не достигат статистическа значимост (Kruskal–Wallis  $H(2) = 3.835$ ;  $p = 0.147$ ).

Резултатите от обобщения линеен модел (GLM, Gamma, log-link), коригиран за възраст и пол, показват несигнификантно повишение на нивата на проинсулин както при активна инфекция ( $\beta = 0.474$ ;  $p = 0.219$ ), така и в пост-COVID групата ( $\beta = 0.30$ ;  $p > 0.05$ ) спрямо контролната група с МС. Не се установява статистически значима разлика и между активната и пост-COVID групата ( $\beta = -0.17$ ;  $p > 0.05$ ).

Вътрегруповият анализ не показва статистически значими различия по пол или диабетен статус ( $p > 0.05$ ).

При подгрупов анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) се наблюдава хетерогенен профил на показателя (Фиг. 16), без статистически значими различия между отделните подгрупи (Kruskal–Wallis  $H(3) = 3.84$ ;  $p = 0.428$ ).

Корелационният анализ показва, че в Група 1 проинсулинът корелира позитивно с HbA1c ( $r_s = 0.535$ ;  $p = 0.040$ ), GLP-1 ( $r_s = 0.846$ ;  $p < 0.001$ ) и лептин ( $r_s = 0.626$ ;  $p = 0.001$ ). В Група 2 се установява позитивна корелация с IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.543$ ;  $p = 0.001$ ). В Група 3 проинсулинът корелира позитивно с инсулин ( $r_s = 0.860$ ;  $p < 0.001$ ), GLP-1 ( $r_s = 0.886$ ;  $p < 0.001$ ) и лептин ( $r_s = 0.670$ ;  $p = 0.002$ ), както и негативно със съотношението Adiponectin/Leptin ( $r_s = -0.806$ ;  $p < 0.001$ ).



**Фиг. 16.** Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на проинсулин в подгрупите на Група 2 - 3Д тип 1/LADA, 3Д тип 2, НГГ, НГТ и ИР

### 5.3. Суругатни индекси за $\beta$ -клетъчната функция

**Табл. 14.** Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) на индексите за  $\beta$ -клетъчна функция и инсулинов процесинг в изследваните групи

| Показател                                  | Група 1<br>Активен COVID<br>(n = 32*)  | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*)   | Група 3 –<br>COVID(-) с<br>МС (n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test |
|--|--|--|---|----------------------------|
| <b>НОМА-В</b>                              | 159.33 $\pm$ 138.77<br>135.10 (149.84) | 183.14 $\pm$ 175.85<br>113.41 (209.88) | 330.09 $\pm$ 441.90<br>223.27 (204.76)  | $H = 19.65$<br>$p < 0.001$ |
| <b>C-peptide/<br/>Glucose<br/>ratio</b>    | 0.89 $\pm$ 0.81<br>0.56 (1.00)         | 1.35 $\pm$ 1.26<br>1.03 (1.19)         | 0.45 $\pm$ 0.69<br>0.24 (0.29)          | $H = 15.01$<br>$p < 0.001$ |
| <b>Insulin/<br/>Proinsulin<br/>ratio</b>   | 40.11 $\pm$ 47.57<br>26.67 (33.71)     | 38.67 $\pm$ 48.57<br>33.10 (14.54)     | 23.33 $\pm$ 14.32<br>24.11 (8.54)       | $H = 7.51$<br>$p = 0.023$  |
| <b>Proinsulin/<br/>C-peptide<br/>ratio</b> | 5.56 $\pm$ 6.05<br>2.61 (1.00)         | 3.28 $\pm$ 5.29<br>1.05 (1.00)         | 10.05 $\pm$ 8.93<br>7.35 (1.00)         | $H = 18.57$<br>$p < 0.001$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

Най-високи стойности на **НОМА-В** се наблюдават при неболедувалите лица с МС, докато двете COVID-свързани групи демонстрират сходни и по-ниски стойности (Табл. 14). Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 19.65$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът показва сигнификантни разлики между

Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 223.0$ ;  $p = 0.007$ ), както и между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 240.0$ ;  $p = 0.023$ ), без разлика между двете COVID-свързани групи ( $p > 0.05$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) се установяват значимо по-високи стойности на HOMA-B както при активна инфекция ( $\beta = 1.74$ ;  $e^\beta = 5.71$ ; 95% CI: 3.18–10.25;  $p < 0.001$ ), така и в пост-COVID групата ( $\beta = 1.74$ ;  $e^\beta = 5.68$ ; 95% CI: 3.84–8.41;  $p < 0.001$ ) спрямо контролната група, без разлика между двете фази ( $\beta = 0.004$ ;  $p = 0.989$ ).

Вътрегруповият анализ установява значима разлика между диабетици и недиабетици единствено в пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 32.0$ ;  $p = 0.001$ ), като недиабетиците демонстрират по-високи стойности.

Корелационният анализ показва, че при преболедувалите HOMA-B корелира отрицателно с плазмена глюкоза на гладно ( $r_s = -0.717$ ;  $p < 0.001$ ), HbA1c ( $r_s = -0.818$ ;  $p < 0.001$ ), IL-10 ( $r_s = -0.438$ ;  $p = 0.019$ ) и TyG index ( $r_s = -0.536$ ;  $p = 0.005$ ).

**Съотношението C-peptide/Glucose** също се различава значимо между групите (Kruskal–Wallis  $H(2) = 15.01$ ;  $p < 0.001$ ). Най-ниски стойности се установяват при неболедувалите лица с MC, докато най-високи – при преболедувалите COVID-19 пациенти с нововъзникнали ВХ нарушения. Лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция демонстрират междинни стойности (Табл. 14). Пост-хок анализът показва сигнификантно по-високи стойности при преболедувалите спрямо неболедувалите лица с MC (Mann–Whitney  $U = 595.0$ ;  $p < 0.001$ ), както и по-високи стойности при активна инфекция спрямо референтната група (Mann–Whitney  $U = 492.0$ ;  $p = 0.012$ ). Разлика между активната и пост-COVID групата не се установява ( $p > 0.05$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) се установява значимо повишение на съотношението както при активна инфекция ( $\beta = 1.029$ ;  $e^\beta = 2.80$ ; 95% CI: 1.32–5.94;  $p = 0.007$ ), така и в пост-COVID групата ( $\beta = 1.360$ ;  $e^\beta = 3.90$ ; 95% CI: 2.15–7.07;  $p < 0.001$ ) спрямо контролната група с MC, без разлика между двете COVID-свързани групи ( $\beta = -0.331$ ;  $p = 0.359$ ).

Вътрегрупов анализ установява статистически значима разлика между диабетици и недиабетици единствено при активна инфекция, като диабетиците имат по-ниски

стойности (Mann–Whitney  $U = 29.0$ ;  $p < 0.001$ ). В останалите групи разлики според диабетния статус не се установяват ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва при активна инфекция отрицателна корелация с CD8 ( $r_s = -0.459$ ;  $p = 0.019$ ) и TNF- $\alpha$  ( $r_s = -0.376$ ;  $p = 0.033$ ). В пост-COVID групата се установяват положителни корелации с ИТМ ( $r_s = 0.423$ ;  $p = 0.020$ ) и HDL-C ( $r_s = 0.419$ ;  $p = 0.037$ ). В референтната група се наблюдава отрицателна корелация с адипонектин ( $r_s = -0.548$ ;  $p = 0.019$ ). И в трите групи се установяват силни положителни корелации с С-пептид (Група 1:  $r_s = 0.963$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.931$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.962$ ;  $p < 0.001$ ) и отрицателни със съотношението Proinsulin/C-peptide (Група 1:  $r_s = -0.740$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.840$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.682$ ;  $p = 0.005$ ).

**Съотношението Insulin/Proinsulin** демонстрира сходни стойности при пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция и преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения, докато при неболедувалите лица с МС се наблюдават по-ниски стойности (Табл. 14).

Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 7.505$ ;  $p = 0.023$ ). При двойните сравнения се доказва статистически значима разлика единствено между преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения и неболедувалите с МС (Mann–Whitney  $U = 452.0$ ;  $p = 0.017$ ). Между останалите групи не се установяват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ). След корекция за възраст и пол чрез GLM (Gamma, log-link) не се установяват статистически значими разлики между групите ( $p > 0.05$ ).

При вътрегруповия анализ се установява статистически значима разлика между диабетици и недиабетици в групата на преболедувалите лица (Mann–Whitney  $U = 67.0$ ;  $p = 0.038$ ). В останалите групи не се установяват статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ установява статистически значими зависимости между съотношението Insulin/Proinsulin и редица метаболитни показатели във всички групи без да се установява специфичен COVID-асоцииран модел. И в трите групи се установяват статистически значими положителни корелации с инсулин (Група 1:  $r_s = 0.756$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.521$ ;  $p = 0.003$ ; Група 3:  $r_s = 0.637$ ;  $p = 0.003$ ), както и с НОМА-IR (Група 1:  $r_s = 0.712$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = 0.418$ ;  $p = 0.024$ ; Група 3:  $r_s = 0.577$ ;  $p = 0.010$ ). В

същото време във всички групи се наблюдават отрицателни корелации с QUICKI (Група 1:  $r_s = -0.712$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.418$ ;  $p = 0.024$ ; Група 3:  $r_s = -0.577$ ;  $p = 0.010$ ).

Допълнително, в групите с активна инфекция и в пост-COVID периода се установяват отрицателни корелации с проинсулин (Група 1:  $r_s = -0.515$ ;  $p = 0.008$ ; Група 2:  $r_s = -0.694$ ;  $p < 0.001$ ), както и със съотношението Proinsulin/C-peptide (Група 1:  $r_s = -0.586$ ;  $p = 0.003$ ; Група 2:  $r_s = -0.389$ ;  $p = 0.031$ ). Положителна корелация с НОМА-В се наблюдава в групите с активна инфекция ( $r_s = 0.657$ ;  $p < 0.001$ ) и при неболедевалите лица с МС ( $r_s = 0.512$ ;  $p = 0.025$ ). Специфични за отделните групи зависимости включват отрицателна корелация с IFN- $\gamma$  в пост-COVID групата ( $r_s = -0.489$ ;  $p = 0.007$ ), както и положителни корелации при лицата с МС с 8-epi-PGF2 $\alpha$  ( $r_s = 0.525$ ;  $p = 0.044$ ), TyG index ( $r_s = 0.545$ ;  $p = 0.016$ ) и съотношението TG/HDL-C ( $r_s = 0.488$ ;  $p = 0.034$ ).

**Съотношението Proinsulin/C-peptide** показва ясно изразен фазово-зависим модел с най-високи стойности при неболедевалите лица с МС, междинни – при пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция, а най-ниски – при преболедевалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Табл. 14). Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 18.57$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът показва сигнификантни разлики между Група 1 и Група 2 (Mann–Whitney  $U = 546.0$ ;  $p = 0.011$ ), както и между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 158.0$ ;  $p < 0.001$ ), без разлика между Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 99.0$ ;  $p = 0.184$ ).

След корекция за възраст и пол се установяват значимо по-ниски стойности в пост-COVID групата спрямо контролната ( $\beta = -1.355$ ;  $e^\beta = 0.26$ ; 95% CI: 0.11–0.61;  $p = 0.002$ ). Активната инфекция не се различава от контролната група ( $\beta = -0.309$ ;  $p = 0.604$ ). Директното сравнение показва по-високи стойности при активна инфекция спрямо пост-COVID групата ( $\beta = 1.046$ ;  $e^\beta = 2.85$ ; 95% CI: 1.06–7.65;  $p = 0.038$ ).

Вътрегрупово значима разлика между диабетици и недиабетици се установява единствено в групата с активна инфекция (Mann–Whitney  $U = 120.0$ ;  $p = 0.024$ ). Допълнително, диабетиците от групата с МС се различават от диабетиците в пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 11.0$ ;  $p = 0.015$ ).

Корелационният анализ показва, че в трите групи съотношението Proinsulin/C-peptide корелира отрицателно с С-пептид (Група 1:  $r_s = -0.771$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.827$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.593$ ;  $p = 0.020$ ) и със съотношението C-peptide/Glucose (Група 1:  $r_s = -0.740$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.840$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.682$ ;  $p = 0.005$ ).

Установяват се отрицателни корелации със съотношението Insulin/Proinsulin (Група 1:  $r_s = -0.586$ ;  $p = 0.003$ ; Група 2:  $r_s = -0.389$ ;  $p = 0.031$ ).

Допълнително, в Група 1 се установява отрицателна корелация с HDL-C ( $r_s = -0.556$ ;  $p = 0.005$ ); в Група 2 – положителна с проинсулин ( $r_s = 0.591$ ;  $p = 0.001$ ) и отрицателна с адипонектин ( $r_s = -0.433$ ;  $p = 0.012$ ); в Група 3 – положителни корелации с проинсулин ( $r_s = 0.729$ ;  $p = 0.002$ ), лептин ( $r_s = 0.720$ ;  $p = 0.006$ ) и НОМА-IR ( $r_s = 0.625$ ;  $p = 0.013$ ), както и отрицателна с QUICKI ( $r_s = -0.625$ ;  $p = 0.013$ ).

### Подгрупов анализ на индексите за $\beta$ -клетъчна функция в група 2 според типа ВХ нарушение

Подгруповият анализ в рамките на група 2 показва наличие на статистически значими различия по отношение на НОМА-В (Kruskal–Wallis  $H(3) = 12.693$ ;  $p = 0.013$ ) и съотношението C-peptide/Glucose (Kruskal–Wallis  $H(3) = 13.306$ ;  $p = 0.010$ ), докато за съотношенията Insulin/Proinsulin и Proinsulin/C-peptide не се установяват значими различия ( $p > 0.05$ ) (Табл. 15).

**Табл. 15. Индекси за оценка на  $\beta$ -клетъчна функция при отделните подгрупи лица с различен тип ВХ нарушения от група 2 (ЗД тип 1, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР)**

| Индекс за оценка на $\beta$ -кл. функция   | ЗД тип 1 (n = 8*)                     | ЗД тип 2 (n = 11*)                    | НГГ (n = 4*)                              | НГТ (n = 3*)                         | ИР (n = 9*)                               | K.W. Test  |
|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---|--------------------------------------|---|------------|
|  | Mean $\pm$ SD<br>Median<br>(IQR)      | Mean $\pm$ SD<br>Median<br>(IQR)      | Mean $\pm$ SD<br>Median<br>(IQR)          | Mean $\pm$ SD<br>Median<br>(IQR)     | Mean $\pm$ SD<br>Median<br>(IQR)          |            |
| <b>НОМА-В</b>                              | 62.52 $\pm$ 72.68<br>20.82<br>(65.03) | 112.10 $\pm$ 91.7<br>77.52<br>(75.61) | 214.62 $\pm$ 217.39<br>113.97<br>(128.83) | 450.62<br>450.62<br>(0.0)            | 298.78 $\pm$ 199.79<br>287.21<br>(156.53) | $p < 0.05$ |
| <b>C-peptide/<br/>Glucose<br/>Ratio</b>    | 0.36 $\pm$ 0.26<br>0.38 (0.40)        | 1.31 $\pm$ 0.54<br>1.29 (0.41)        | 2.86 $\pm$ 1.88<br>2.10 (1.45)            | 0.69<br>0.69 (0.0)                   | 1.46 $\pm$ 1.46<br>0.84 (1.62)            | $p < 0.05$ |
| <b>Insulin/<br/>Proinsulin<br/>Ratio</b>   | 34.79 $\pm$ 14.90<br>34.61<br>(11.45) | 29.05 $\pm$ 10.42<br>30.10<br>(12.48) | 120.51 $\pm$ 145.48<br>55.43<br>(83.76)   | 36.35 $\pm$ 10.61<br>36.35<br>(7.50) | 37.05 $\pm$ 17.42<br>39.34<br>(11.56)     | NS         |
| <b>Proinsulin/<br/>C-peptide<br/>Ratio</b> | 6.45 $\pm$ 10.7<br>1.17 (2.74)        | 1.83 $\pm$ 2.74<br>0.99 (0.83)        | 0.36 $\pm$ 0.25<br>0.33 (0.19)            | 3.84 $\pm$ 4.91<br>3.84 (3.47)       | 3.83 $\pm$ 4.52<br>1.55 (6.26)            | NS         |

NS – липсва статистически значима разлика между отделните подгрупи;  $p < 0.05$  – установява се статистически значима разлика между отделните подгрупи;

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните подгрупи поради липсващи или непълни данни за част от анализираните показатели.

Най-ниски стойности на НОМА-В и съотношението C-peptide/Glucose се наблюдават при лицата със ЗД тип 1, като НОМА-В при тази подгрупа се различава значимо както от ЗД тип 2 (Mann–Whitney U = 54.0; p = 0.007), така и от ИР (Mann–Whitney U = 1.0; p < 0.001). По отношение на съотношението C-peptide/Glucose, лицата със ЗД тип 1 се различават значимо от ЗД тип 2 (Mann–Whitney U = 57.0; p = 0.002) и от обединената подгрупа НГГ + НГТ (Mann–Whitney U = 0.0; p = 0.004).

Най-високи стойности на НОМА-В се установяват при НГТ и ИР, докато най-високи стойности на съотношението Insulin/Proinsulin се наблюдават при НГГ, без статистическа значимост. Най-високи стойности на съотношението Proinsulin/C-peptide се регистрират при ЗД тип 1, без установени междугрупови различия (p > 0.05)

#### 5.4. Сурогатни индекси за ИР

При оценката на инсулиновата чувствителност чрез **НОМА-IR** се установяват високи стойности на индекса и в трите основни групи. Най-високи стойности на НОМА-IR се наблюдават при пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция, докато преболедевалите лица заемат междинна позиция, а неболедевалите с МС демонстрират най-ниски медианни стойности (Табл. 16).

**Табл. 16. Описателна статистика (Mean ± SD; Median (IQR)) на индексите за ИР в изследваните групи**

| Показател      | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*) | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test |
|----------------|---|--------------------------------------|---|----------------------------|
| <b>НОМА-IR</b> | 8.56 ± 5.59<br>8.26 (8.96)              | 7.41 ± 11.37<br>4.13 (3.58)          | 8.4 ± 17.67<br>3.29 (4.44)              | H = 7.55<br>p = 0.05       |
| <b>QUICKI</b>  | 0.17 ± 0.03<br>0.16 (0.03)              | 0.18 ± 0.03<br>0.18 (0.02)           | 0.19 ± 0.04<br>0.19 (0.04)              | H = 7.55<br>p = 0.023      |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

Междугруповият анализ не установява статистически значими различия, като резултатът е граничен по значимост (Kruskal–Wallis H(2) = 7.55; p = 0.0504).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установяват статистически значими разлики между групите: при активна инфекция ( $\beta = -0.499$ ; p = 0.102), в пост-COVID ( $\beta = -0.322$ ; p = 0.200) спрямо референтната група с МС, както и при директното сравнение между двете COVID-свързани групи ( $\beta = -0.178$ ; p = 0.685).

Вътрегруповият анализ не показва статистически значими различия според пол и диабетен статус ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва, че HOMA-IR корелира положително с инсулин и в трите групи (Гр. 1:  $r_s = 0.960$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 2:  $r_s = 0.697$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 3:  $r_s = 0.969$ ;  $p < 0.001$ ), както и с глюкоза на гладно (Гр. 1:  $r_s = 0.367$ ;  $p = 0.042$ ; Гр. 2:  $r_s = 0.573$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 3:  $r_s = 0.707$ ;  $p < 0.001$ ) и HOMA-B (Гр. 1:  $r_s = 0.657$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 2:  $r_s = 0.605$ ;  $p = 0.001$ ). При лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция се установява допълнителна положителна корелация със съотношението Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.712$ ;  $p < 0.001$ ). В пост-COVID групата се наблюдава и положителна асоциация с HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.415$ ;  $p = 0.023$ ).

В референтната група с МС корелационният профил е по-широк и включва допълнителни положителни връзки с ТГ ( $r_s = 0.400$ ;  $p = 0.048$ ), проинсулин ( $r_s = 0.840$ ;  $p < 0.001$ ), лептин ( $r_s = 0.808$ ;  $p < 0.001$ ), GLP-1 ( $r_s = 0.852$ ;  $p < 0.001$ ), съотношенията Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.577$ ;  $p = 0.010$ ) и Proinsulin/C-peptide ( $r_s = 0.625$ ;  $p = 0.013$ ), TyG index ( $r_s = 0.656$ ;  $p = 0.003$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.531$ ;  $p = 0.006$ ), както и отрицателна корелация със съотношението Adiponectin/Leptin ( $r_s = -0.796$ ;  $p < 0.001$ ).

Най-ниски стойности на **QUICKI** се наблюдават при пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция, следвани от преболедувалите лица, докато неболедувалите с МС демонстрират най-високи стойности (Табл. 16).

Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 7.55$ ;  $p = 0.023$ ). Пост-хок анализът показва значимо по-ниски стойности при активна инфекция спрямо преболедувалите (Mann–Whitney  $U = 317.0$ ;  $p = 0.033$ ) и спрямо неболедувалите с МС (Mann–Whitney  $U = 244.0$ ;  $p = 0.018$ ), без разлика между групи 2 и 3 (Mann–Whitney  $U = 310.0$ ;  $p = 0.276$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установяват статистически значими разлики: при активна инфекция ( $\beta = -0.053$ ;  $p = 0.219$ ), в пост-COVID групата ( $\beta = -0.038$ ;  $p = 0.292$ ), както и при директното сравнение между двете COVID-свързани групи ( $\beta = -0.016$ ;  $p = 0.70$ ).

Вътрегруппово не се установяват значими разлики по пол и диабетен статус ( $p > 0.05$ ). При стратификация по диабетен статус се установява статистически значима разлика

единствено сред недиабетиците между групи 1 и 3 (Mann–Whitney  $U = 60.0$ ;  $p = 0.021$ ), като пациентите с активна инфекция демонстрират по-ниски стойности.

Корелационният анализ установява ясно изразени зависимости между QUICKI и показателите на глюкозо-инсулиновата ос и останалите индекси за ИР. И в трите групи се наблюдава изразена отрицателна корелация с инсулин (Гр. 1:  $r_s = -0.953$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 2:  $r_s = -0.697$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 3:  $r_s = -0.969$ ;  $p < 0.001$ ), както и със съотношението Insulin/Proinsulin (Гр. 1:  $r_s = -0.712$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 2:  $r_s = -0.418$ ;  $p = 0.024$ ; Гр. 3:  $r_s = -0.577$ ;  $p = 0.010$ ).

При лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция се установява допълнителна отрицателна корелация с НОМА-В ( $r_s = -0.708$ ;  $p < 0.001$ ). В пост-COVID групата QUICKI корелира още с HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = -0.415$ ;  $p = 0.023$ ), глюкоза на гладно ( $r_s = -0.573$ ;  $p = 0.001$ ) и НОМА-В ( $r_s = -0.605$ ;  $p = 0.001$ ).

В референтната група с МС се наблюдават допълнителни отрицателни корелации с ИТМ ( $r_s = -0.576$ ;  $p = 0.003$ ), ТГ ( $r_s = -0.400$ ;  $p = 0.048$ ), глюкоза на гладно ( $r_s = -0.707$ ;  $p < 0.001$ ), съотношението Proinsulin/C-peptide ( $r_s = -0.625$ ;  $p = 0.013$ ), лептин ( $r_s = -0.809$ ;  $p < 0.001$ ), GLP-1 ( $r_s = -0.853$ ;  $p < 0.001$ ), TyG index ( $r_s = -0.565$ ;  $p = 0.003$ ) и METS-IR ( $r_s = -0.531$ ;  $p = 0.006$ ), както и положителна корелация със съотношението Adiponectin/Leptin ( $r_s = 0.796$ ;  $p < 0.001$ ).

**Табл. 17. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) на индексите за ИР в изследваните групи**

| Показател                 | Група 4 –<br>Активен COVID<br>(n = 69) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*)   | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test |
|---------------------------|--|--|---|----------------------------|
| <b>TyG index</b>          | 159.33 $\pm$ 138.77<br>135.10 (149.84) | 183.14 $\pm$ 175.85<br>113.41 (209.88) | 330.09 $\pm$ 441.90<br>223.27 (204.76)  | $H = 59.55$<br>$p < 0.001$ |
| <b>TG/HDL-C<br/>ratio</b> | 0.89 $\pm$ 0.81<br>0.56 (1.00)         | 1.35 $\pm$ 1.26<br>1.03 (1.19)         | 0.45 $\pm$ 0.69<br>0.24 (0.29)          | $H = 18.42$<br>$p < 0.001$ |
| <b>METS-IR</b>            | -                                      | 38.67 $\pm$ 48.57<br>33.10 (14.54)     | 23.33 $\pm$ 14.32<br>24.11 (8.54)       |                            |

\*  $n$  – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирания показател.

Анализът на неинсулин-базирания триглицеридно-глюкозен индекс (TyG index) разкрива ясно изразени междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 59.55$ ;  $p < 0.001$ ). Най-високи стойности на TyG index се наблюдават при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 4), междинни при преболедувалите с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2), а най-ниски – при неболедувалите лица с МС (Група 3) (Табл. 17). Пост-хок

анализът показва сигнификантни разлики между Група 4 и Група 3 (Mann–Whitney U = 604.0;  $p < 0.001$ ), както и между Група 4 и Група 2 (Mann–Whitney U = 677.0;  $p = 0.015$ ), без разлика между Група 2 и Група 3 ( $p = 0.176$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установява статистически значима разлика между пост-COVID и референтната група с МС ( $\beta = 0.038$ ;  $p = 0.193$ ). При активна инфекция се отчита гранично повишение спрямо референтната група ( $\beta = 0.056$ ;  $p = 0.060$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID групата не показва значима разлика ( $\beta = 0.018$ ;  $p = 0.512$ ).

Вътрегрупов анализ по пол установява по-високи стойности при мъжете в Група 2 (Mann–Whitney U = 142.0;  $p = 0.033$ ) и в Група 4 (Mann–Whitney U = 630.0;  $p = 0.001$ ). По отношение на диабетния статус се установяват значими разлики в Група 2 (Mann–Whitney U = 168.0;  $p = 0.005$ ) и в Група 3 (Mann–Whitney U = 205.0;  $p = 0.001$ ), докато в Група 4 разлика не се установява ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва, че TyG index корелира положително с глюкоза на гладно и ТГ и в трите групи (глюкоза: Гр. 2:  $r_s = 0.646$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 3:  $r_s = 0.754$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 4:  $r_s = 0.604$ ;  $p < 0.001$ ; ТГ: Гр. 2:  $r_s = 0.551$ ;  $p = 0.002$ ; Гр. 3:  $r_s = 0.917$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 4:  $r_s = 0.756$ ;  $p < 0.001$ ), както и отрицателно с HDL-C (Гр. 2:  $r_s = -0.596$ ;  $p = 0.002$ ; Гр. 3:  $r_s = -0.382$ ;  $p = 0.028$ ; Гр. 4:  $r_s = -0.571$ ;  $p = 0.011$ ). Освен това се установява положителна корелация със съотношението TG/HDL-C в групи 2 и 3 (Гр. 2:  $r_s = 0.849$ ;  $p < 0.001$ ; Гр. 3:  $r_s = 0.754$ ;  $p < 0.001$ ).

В пост-COVID групата (Гр. 2) TyG index демонстрира най-широк корелационен профил, включващ положителни асоциации с IL-10 ( $r_s = 0.481$ ;  $p = 0.008$ ), IL-17A ( $r_s = 0.384$ ;  $p = 0.048$ ), HCF-D ( $r_s = 0.387$ ;  $p = 0.038$ ), възраст ( $r_s = 0.361$ ;  $p = 0.039$ ), ИТМ ( $r_s = 0.409$ ;  $p = 0.018$ ), HbA1c ( $r_s = 0.528$ ;  $p = 0.012$ ), индексите НОМА-IR ( $r_s = 0.565$ ;  $p = 0.003$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.570$ ;  $p = 0.001$ ), както и отрицателни корелации с НОМА-B ( $r_s = -0.536$ ;  $p = 0.005$ ) и QUICKI ( $r_s = -0.565$ ;  $p = 0.003$ ), и положителна връзка със съотношението Insulin/Proinsulin ( $r_s = 0.544$ ;  $p = 0.016$ ). В референтната група с МС (Гр. 3) допълнително се наблюдават положителни корелации с IL-10 ( $r_s = 0.346$ ;  $p = 0.041$ ), HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.489$ ;  $p = 0.005$ ) и инсулин ( $r_s = 0.476$ ;  $p = 0.016$ ). В групата с активна инфекция (Гр. 4) корелационният модел е ограничен до класическите липидно-гликемични параметри.

**Съотношението TG/HDL-C също показва отчетлив фазово-зависим модел. Най-високи стойности се наблюдават при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 4),**

междинни при неболедувалите с МС (Група 3), а най-ниски – при преболедувалите с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2) (Табл. 17).

Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 18.42$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът показва сигнификантни разлики между Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 284.0$ ;  $p = 0.01$ ), между Група 2 и Група 4 (Mann–Whitney  $U = 122.0$ ;  $p = 0.002$ ), както и между Група 3 и Група 4 (Mann–Whitney  $U = 187.0$ ;  $p = 0.0017$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM, Gamma, log-link) не се установява статистически значима разлика между Група 2 и Група 3 ( $\beta = -0.326$ ;  $p = 0.213$ ), нито между Група 4 и Група 3 ( $\beta = 0.360$ ;  $p = 0.286$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID групата показва статистически значимо по-високо TG/HDL-C ratio при активна инфекция ( $\beta = 0.686$ ;  $e^{\beta} = 1.99$ ; 95% CI: 1.03–3.84;  $p = 0.041$ ).

Вътрегруповото сравнение по пол установява значима разлика единствено в Група 4 (Mann–Whitney  $U = 66.0$ ;  $p < 0.001$ ). По диабетен статус се установява значима разлика в Група 3 (Mann–Whitney  $U = 191.0$ ;  $p = 0.007$ ). Допълнително, значима разлика се установява и между диабетичите от Група 2 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 28.0$ ;  $p = 0.0127$ ). При недиабетиците се установяват значими разлики между Група 2 и Група 4 (Mann–Whitney  $U = 28.0$ ;  $p = 0.006$ ) и между Група 3 и Група 4 (Mann–Whitney  $U = 61.0$ ;  $p = 0.003$ ).

Корелационният анализ показва консистентни зависимости между съотношението TG/HDL-C и класическите липидни показатели във всички групи – установяват се силни положителни корелации с ТГ (Група 2:  $r_s = 0.867$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.888$ ;  $p < 0.001$ ; Група 4:  $r_s = 0.799$ ;  $p < 0.001$ ) и отрицателни корелации с HDL-C (Група 2:  $r_s = -0.862$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.691$ ;  $p < 0.001$ ; Група 4:  $r_s = -0.826$ ;  $p < 0.001$ ). Допълнително, в трите групи се установяват положителни корелации с TyG index (Група 2:  $r_s = 0.551$ ;  $p = 0.002$ ; Група 3:  $r_s = 0.849$ ;  $p < 0.001$ ; Група 4:  $r_s = 0.754$ ;  $p < 0.001$ ). В Група 2 и Група 3 се наблюдават и позитивни корелации с IL-10 (Група 2:  $r_s = 0.435$ ;  $p = 0.021$ ; Група 3:  $r_s = 0.404$ ;  $p = 0.016$ ) и HIF-1 $\alpha$  (Група 2:  $r_s = 0.863$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.453$ ;  $p = 0.011$ ).

Специфично за Група 2 се установяват допълнителни корелации с IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.411$ ;  $p = 0.037$ ), възрастта ( $r_s = -0.433$ ;  $p = 0.021$ ), С-пептид ( $r_s = -0.505$ ;  $p = 0.010$ ), проинсулин ( $r_s = 0.394$ ;  $p = 0.042$ ), адипонектин ( $r_s = -0.450$ ;  $p = 0.018$ ), съотношението Proinsulin/C-

peptide ( $r_s = 0.547$ ;  $p = 0.006$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.456$ ;  $p = 0.015$ ), а в Група 4 – с LDL-C ( $r_s = 0.567$ ;  $p = 0.031$ ).

**Индексът METS-IR**, е изчислен при преболедувалите и неболедувалите лица и показва по-високи средни стойности в референтната група с МС в сравнение с преболедувалите COVID-19 пациенти (Табл. 17), без достигане на статистическа значимост (Mann–Whitney  $U = 351.0$ ;  $p = 0.110$ ). След корекция за възраст и пол чрез GLM (Gamma, log-link), отново не се установява значима разлика между групите ( $\beta = -0.108$ ;  $p = 0.182$ ).

Значими междуполови различия се наблюдават единствено в Група 3, където мъжете демонстрират по-високи стойности спрямо жените (Mann–Whitney  $U = 79.0$ ;  $p = 0.03$ ). По отношение на диабетния статус не се наблюдават статистически значими различия в нито една от групите ( $p > 0.05$ ).

Корелационният анализ показва, че и в двете групи METS-IR корелира позитивно с HIF-1 $\alpha$  (Група 2:  $r_s = 0.669$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.490$ ;  $p = 0.005$ ) и съотношението TG/HDL-C (Група 2:  $r_s = 0.457$ ;  $p = 0.015$ ; Група 3:  $r_s = 0.554$ ;  $p = 0.001$ ). В Група 2 се установяват допълнителни позитивни корелации с IL-7 ( $r_s = 0.425$ ;  $p = 0.030$ ), IL-10 ( $r_s = 0.437$ ;  $p = 0.020$ ), ИТМ ( $r_s = 0.781$ ;  $p < 0.001$ ), ASAT ( $r_s = 0.563$ ;  $p = 0.005$ ), ALAT ( $r_s = 0.637$ ;  $p = 0.001$ ), пикочна киселина ( $r_s = 0.612$ ;  $p = 0.002$ ) и HDL-C ( $r_s = -0.384$ ;  $p = 0.044$ ). В Група 3 METS-IR корелира с ИТМ ( $r_s = 0.941$ ;  $p < 0.001$ ), глюкоза на гладно ( $r_s = 0.537$ ;  $p = 0.001$ ), ТГ ( $r_s = 0.459$ ;  $p = 0.007$ ), HDL-C ( $r_s = -0.515$ ;  $p = 0.002$ ), инсулин ( $r_s = 0.500$ ;  $p = 0.011$ ), лептин ( $r_s = 0.563$ ;  $p = 0.012$ ), HOMA-IR ( $r_s = 0.531$ ;  $p = 0.006$ ), QUICKI ( $r_s = -0.531$ ;  $p = 0.006$ ) и TyG index ( $r_s = 0.569$ ;  $p = 0.001$ ).

### **Индекси за оценка на ИР при подгрупите на Група 2**

Подгруповият анализ в рамките на Група 2 показва наличие на различия в степента на инсулинова резистентност според типа нововъзникнало ВХ нарушение (Табл. 18).

При HOMA-IR се установява статистически значима разлика между подгрупата с изолирана ИР и обединената подгрупа предиабет (НГГ + НГТ) (Mann–Whitney  $U = 0.0$ ;  $p = 0.0015$ ), като най-високи стойности се наблюдават при лицата с НГГ, НГТ и ЗД тип 1. За QUICKI не се установяват статистически значими различия между подгрупите (Kruskal–Wallis  $H(3) = 6.84$ ;  $p = 0.145$ ).

По отношение на TyG index се наблюдават значими междугрупови различия (Kruskal–Wallis  $H(3) = 22.13$ ;  $p = 0.0047$ ), като подгрупата със ЗД тип 1 демонстрира по-високи

стойности спрямо лицата с изолирана ИР (Mann–Whitney  $U = 63.0$ ;  $p = 0.008$ ). При TG/HDL-C ratio не се установяват статистически значими различия между отделните подгрупи (Kruskal–Wallis  $H(3) = 5.9039$ ;  $p > 0.05$ ). Аналогично, при METS-IR не се наблюдават значими различия (Kruskal–Wallis  $H(3) = 6.7381$ ;  $p > 0.05$ ).

**Табл. 18. Индекси за оценка на ИР при отделните подгрупи лица с различен тип ВХ нарушения от група 2 (ЗД тип 1, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР)**

| Показател             | ЗД тип 1<br>(n = 8*)             | ЗД тип 2<br>(n = 11*)             | НГГ<br>(n = 4*)              | НГТ<br>(n = 3*)              | ИР<br>(n = 9*)                    | K.W.<br>Test |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--------------|
|                       | Mean ± SD<br>Median<br>(IQR)     | Mean ± SD<br>Median<br>(IQR)      | Mean ± SD<br>Median<br>(IQR) | Mean ± SD<br>Median<br>(IQR) | Mean ± SD<br>Median<br>(IQR)      |              |
| <b>НОМА-IR</b>        | 4.99 ± 3.6<br>4.94 (3.89)        | 6.41 ± 6.23<br>3.81 (4.86)        | 8.3 ± 7.16<br>4.86 (3.97)    | 5.24<br>5.24 (0.0)           | 3.08 ± 0.82<br>3.36 (0.75)        | NS*          |
| <b>QUICKI</b>         | 0.13 ± 0.01<br>0.13 (0.01)       | 0.13 ± 0.01<br>0.14 (0.02)        | 0.13 ± 0.01<br>0.13 (0.01)   | 0.13<br>0.13 (0.0)           | 0.14 ± 0.01<br>0.14 (0.0)         | NS           |
| <b>TyG index</b>      | 5.18 ± 0.81<br>4.92 (1.1)        | 4.7 ± 0.26<br>4.65 (0.37)         | 4.59 ± 0.6<br>4.32 (0.55)    | 4.5<br>4.5 (0.0)             | 4.27 ± 0.36<br>4.20 (0.50)        | $p < 0.05$   |
| <b>TG/HDL-C Ratio</b> | 2.62 ± 2.55<br>1.21 (2.69)       | 1.87 ± 0.75<br>1.60 (0.82)        | 0.67 ± 0.13<br>0.67 (0.09)   | 2.29<br>2.29 (0.0)           | 2.35 ± 1.40<br>1.87 (0.91)        | NS           |
| <b>METS-IR</b>        | 52.94 ± 29.35<br>43.25<br>(6.75) | 59.69 ± 11.22<br>61.19<br>(15.16) | 42.5 ± 1.56<br>42.5<br>(1.1) | 55.62<br>55.62<br>(0.0)      | 56.16 ± 14.10<br>58.53<br>(19.76) | NS           |

NS – липсва статистически значима разлика между отделните подгрупи;  $p < 0.05$  – установява се статистически значима разлика между отделните подгрупи; \* Пост-хок анализът установи статистически значима разлика между подгрупата с ИР и обединената подгрупа предиабет (НГГ + НГТ) (Mann–Whitney  $U = 0.0$ ;  $p = 0.0015$ )

В обобщение, статистически значими различия между подгрупите се установяват при НОМА-IR и TyG index, докато останалите индекси не показват сигнификантна стратификация според типа ВХ нарушение.

## 6. Оценка ролята на адипоцитокени и други хормонално активни молекули в генезата на COVID-19–асоцираната дисгликемия

### 6.1. Други хормонално активни молекули

**GLP-1.** При сравнение на серумните нива на GLP-1 между пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1) и неболедувалите лица с МС (Група 3) не се установява статистически значима разлика (Mann–Whitney  $U = 343.0$ ;  $p = 0.055$ ), въпреки тенденцията към по-високи стойности при активна инфекция (Табл. 19).

След корекция за възраст и пол чрез GLM (Gamma, log-link) разликата остава статистически несигнификантна ( $\beta = 0.327$ ;  $p = 0.376$ ).

Вътрегруповият анализ по пол и диабетен статус не установява статистически значими различия ( $p > 0.05$ ).

**Табл. 19. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на GLP-1 [pg/mL] и GP-73 [ng/mL]**

| Показател | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*) | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test |
|-----------|---|--------------------------------------|---|----------------------------|
| GLP-1     | 186.71 $\pm$ 100.65<br>194.71 (195.01)  | -                                    | 145.14 $\pm$ 142.56<br>109.46 (115.69)  |                            |
| GP-73     | 20.78 $\pm$ 9.70<br>19.80 (15.75)       | 42.39 $\pm$ 20.34<br>44.66 (32.64)   | 48.91 $\pm$ 26.15<br>42.47 (23.21)      | $H = 28.38$<br>$p < 0.001$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

Корелационният анализ установява силни положителни зависимости между GLP-1 и проинсулин както при активна инфекция ( $r_s = 0.846$ ;  $p < 0.001$ ), така и при лицата с МС ( $r_s = 0.886$ ;  $p < 0.001$ ), както и положителна корелация с лептин в двете групи (Група 1:  $r_s = 0.522$ ;  $p = 0.005$ ; Група 3:  $r_s = 0.637$ ;  $p = 0.003$ ). Установява се и отрицателна корелация със съотношението Adiponectin/Leptin (Група 1:  $r_s = -0.466$ ;  $p = 0.019$ ; Група 3:  $r_s = -0.757$ ;  $p = 0.001$ ). При лицата с МС GLP-1 корелира допълнително с глюкоза на гладно ( $r_s = 0.570$ ;  $p = 0.011$ ), инсулин ( $r_s = 0.794$ ;  $p = 0.001$ ), HOMA-IR ( $r_s = 0.853$ ;  $p < 0.001$ ) и QUICKI ( $r_s = -0.853$ ;  $p < 0.001$ ).

**Golgi protein – 73 (GP-73).** Серумните нива на GP-73 се различават статистически значимо между трите изследвани групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 28.38$ ;  $p < 0.001$ ). Най-ниски стойности се установяват при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1), докато при преболедувалите с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2) и при неболедувалите лица с МС (Група 3) се регистрират значително по-високи и съпоставими нива (Табл. 19).

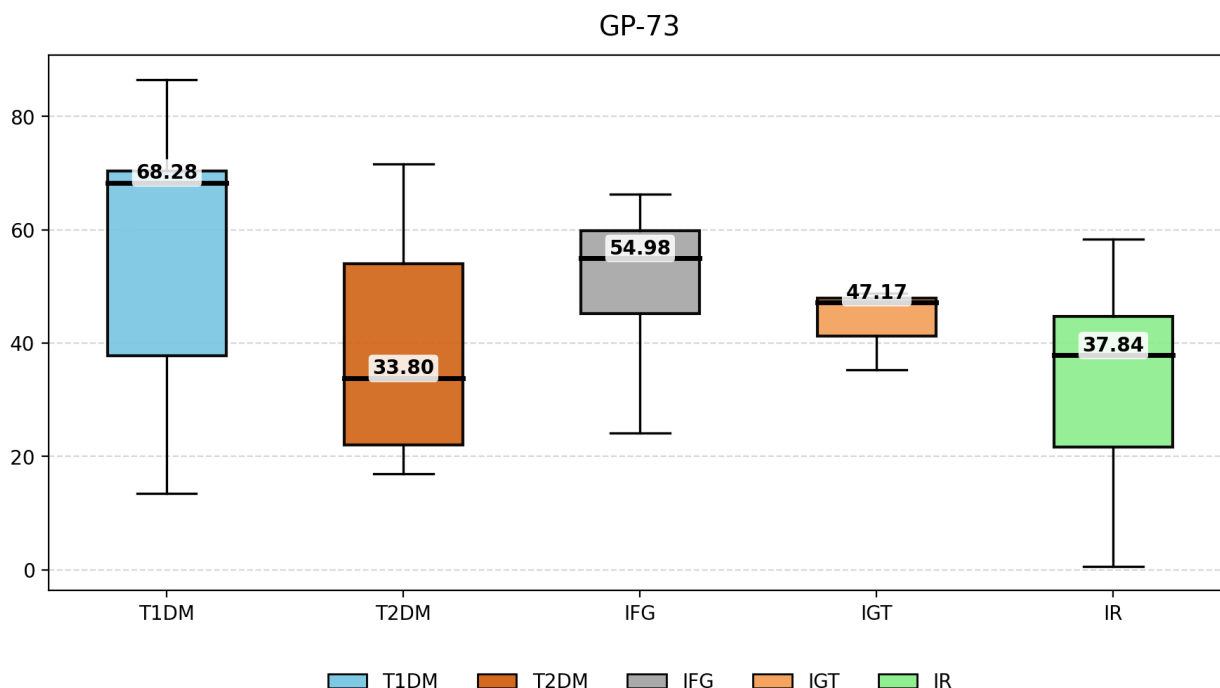
Пост-хок анализът показва сигнификантно по-ниски стойности при активна инфекция спрямо както пост-COVID групата (Mann–Whitney  $U = 160.5$ ;  $p < 0.001$ ), така и референтната група с МС (Mann–Whitney  $U = 45.0$ ;  $p < 0.001$ ), без значима разлика между групи 2 и 3 ( $p = 0.537$ ).

Регресионният анализ (GLM, Gamma, log-link), коригиран за възраст и пол, потвърждава тези находки, като при активна инфекция се установява 57% редукция на нивата на GP-

73 спрямо контролната група ( $\beta = -0.84$ ;  $e^{\beta} = 0.43$ ; 95% CI: 0.20–0.93;  $p = 0.032$ ), докато при преболедувалите не се отчита значима разлика спрямо контролната група ( $\beta = -0.11$ ;  $p = 0.596$ ). Директното сравнение между активната и пост-COVID фазата показва 52% по-ниски стойности при активна инфекция ( $\beta = -0.73$ ;  $e^{\beta} = 0.48$ ; 95% CI: 0.28–0.82;  $p = 0.008$ ).

Вътрегруповият анализ по пол и диабетен статус не установява статистически значими различия ( $p > 0.05$ ). При стратификация по диабетен статус се установяват сигнификантни различия в нивата на GP-73. Сред диабетите най-високи стойности се регистрират в група 3, като те са значимо по-високи спрямо група 1 (Mann–Whitney  $U = 0.0$ ;  $p < 0.001$ ) и група 2 (Mann–Whitney  $U = 55.0$ ;  $p = 0.004$ ). Сред недиабетите най-ниски стойности се наблюдават в група 1, като те се различават статистически значимо както от група 2 (Mann–Whitney  $U = 29.0$ ;  $p = 0.002$ ), така и от група 3 (Mann–Whitney  $U = 18.0$ ;  $p = 0.001$ ).

В подгрупите на Група 2 (ЗД тип 1, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и изолирана ИР) не се наблюдават сигнификантни разлики (Kruskal Wallis  $H(3) = 4.7881$ ;  $p = 0.310$ ), въпреки тенденция към по-високи стойности при ЗД тип 1 (Фиг. 17).



**Фиг. 17. Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на GP-73 в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР**

Корелационният анализ показва групово-специфични асоциации: при активна инфекция GP-73 корелира положително с IL-10 ( $r_s = 0.512$ ;  $p = 0.004$ ); при преболедувалите с нововъзникнали ВХ нарушения – отрицателно с IL-7 ( $r_s = -0.398$ ;  $p = 0.032$ ) и IFN- $\gamma$  ( $r_s = -0.623$ ;  $p = 0.001$ ); при лицата с МС – положително с IFN- $\gamma$  ( $r_s = 0.499$ ;  $p = 0.006$ ), HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = 0.514$ ;  $p = 0.024$ ) и глюкагон ( $r_s = 0.599$ ;  $p = 0.011$ ).

## 6.2. Адипоцитокини и адипокинов баланс

**Табл. 20. Описателна статистика (Mean  $\pm$  SD; Median (IQR)) и междугрупови сравнения на серумните нива на Leptin [pg/mL], Adiponectin [ $\mu$ U/mL] и съотношението Adiponectin/Leptin**

| Показател                            | Група 1 –<br>Активен COVID<br>(n = 32*) | Група 2 –<br>Пост-COVID<br>(n = 35*) | Група 3 –<br>COVID(-) с МС<br>(n = 33*) | Kruskal–<br>Wallis<br>Test  |
|--------------------------------------|---|--------------------------------------|---|-----------------------------|
| <b>Leptin</b>                        | 20.25 $\pm$ 26.30<br>8.09 (31.18)       | 32.14 $\pm$ 25.69<br>22.81 (38.32)   | 52.02 $\pm$ 34.59<br>43.86 (70.39)      | $H = 15.746$<br>$p < 0.001$ |
| <b>Adiponectin</b>                   | 23.53 $\pm$ 3.92<br>25.90 (4.58)        | 25.03 $\pm$ 1.84<br>25.72 (1.67)     | 25.87 $\pm$ 0.60<br>25.94 (0.75)        | $H = 4.065$<br>$p = 0.131$  |
| <b>Adiponectin/<br/>Leptin ratio</b> | 5.81 $\pm$ 8.35<br>2.42 (7.66)          | 2.24 $\pm$ 3.69<br>1.13 (1.91)       | 0.89 $\pm$ 0.79<br>0.60 (1.24)          | $H = 10.475$<br>$p = 0.005$ |

\* n – броят на изследваните лица може да варира между отделните групи поради липсващи или непълни данни за част от анализирани показатели.

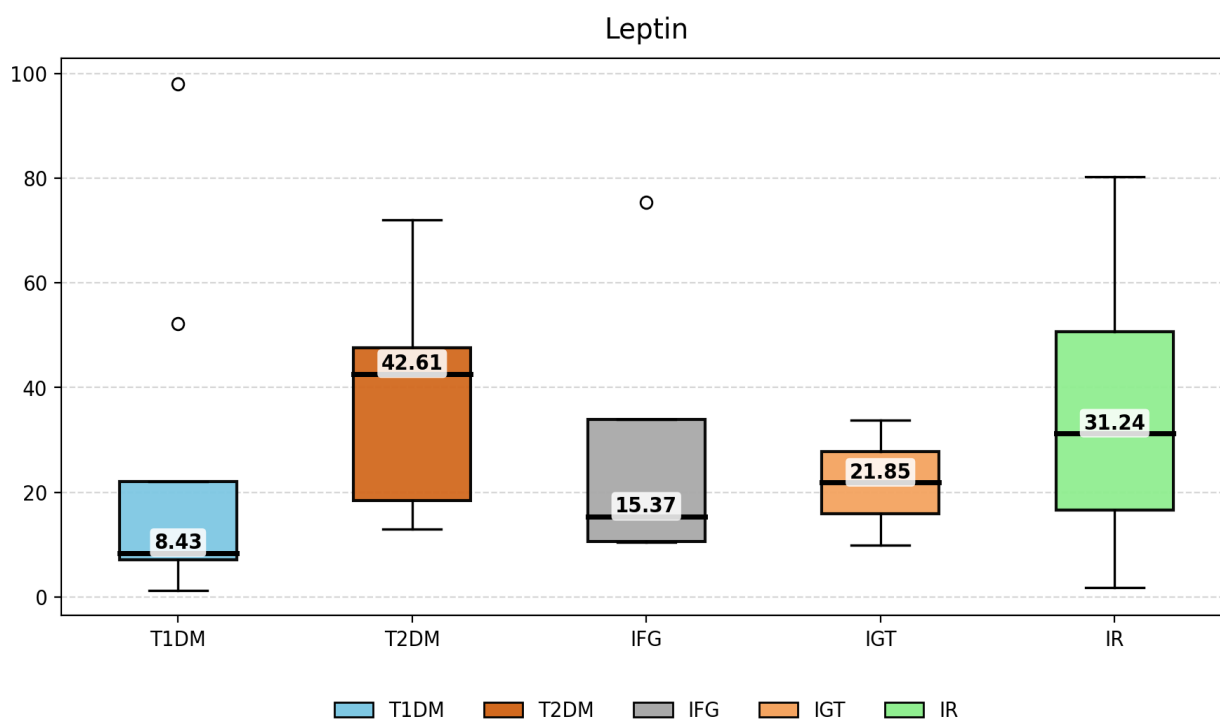
**Лептин.** Серумните нива на лептин са повишени и в трите изследвани групи, като най-се установяват при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция (Група 1), междинни – при преболедувалите с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2), а най-високи – при неболедувалите лица с МС (Група 3) (Табл. 20).

Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 15.746$ ;  $p < 0.001$ ). Пост-хок анализът показва сигнификантни разлики между Група 1 и Група 2 (Mann–Whitney  $U = 281.0$ ;  $p = 0.010$ ), както и между Група 1 и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 93.5$ ;  $p < 0.001$ ), без значима разлика между Група 2 и Група 3 ( $p > 0.05$ ).

GLM анализът (Gamma, log-link), коригиран за възраст и пол, не установява статистически значима разлика между активната инфекция и МС ( $\beta = -0.76$ ;  $p = 0.071$ ), нито между пост-COVID и МС ( $\beta = -0.17$ ;  $p = 0.596$ ). Директното сравнение между активна и пост-COVID групата показва тенденция към по-ниски стойности при активната инфекция ( $\beta = -0.60$ ;  $p = 0.091$ ), без статистическа значимост.

При стратификация по диабетен статус най-ниски нива се установяват при недиабетиците с активна инфекция, които се различават сигнификантно от недиабетиците в Група 2 (Mann–Whitney  $U = 39.0$ ;  $p = 0.014$ ) и Група 3 (Mann–Whitney  $U = 19.0$ ;  $p = 0.001$ ). Сред лицата със ЗД не се установяват статистически значими различия между групите ( $p > 0.05$ ).

Подгруповият анализ в рамките на Група 2 (Фиг. 18) показва най-високи медианни стойности на лептин при лицата със ЗД тип 2 и при тези с нормогликемия и ИР, а най-ниски – при лицата със ЗД тип 1, без достигане на статистическа значимост между подгрупите (Kruskal Wallis  $H(3) = 4.9016$ ;  $p = 0.297$ ).



**Фиг. 18. Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на лептин в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР**

Корелационният анализ показва позитивна връзка между лептин и ИТМ в Група 1 ( $r_s = 0.401$ ;  $p = 0.021$ ) и Група 2 ( $r_s = 0.680$ ;  $p = 0.001$ ). В Група 3 лептин корелира с глюкоза ( $r_s = 0.512$ ;  $p = 0.025$ ), инсулин ( $r_s = 0.745$ ;  $p = 0.001$ ), НОМА-IR ( $r_s = 0.809$ ;  $p < 0.001$ ), QUICKI ( $r_s = -0.809$ ;  $p < 0.001$ ) и METS-IR ( $r_s = 0.563$ ;  $p = 0.012$ ).

В Групи 1 и 3 се установяват положителни корелации с проинсулин (Група 1:  $r_s = 0.626$ ;  $p = 0.001$ ; Група 3:  $r_s = 0.670$ ;  $p = 0.002$ ) и GLP-1 (Група 1:  $r_s = 0.522$ ;  $p = 0.005$ ; Група 3:  $r_s = 0.637$ ;  $p = 0.003$ ). В трите групи се наблюдава силна отрицателна корелация със

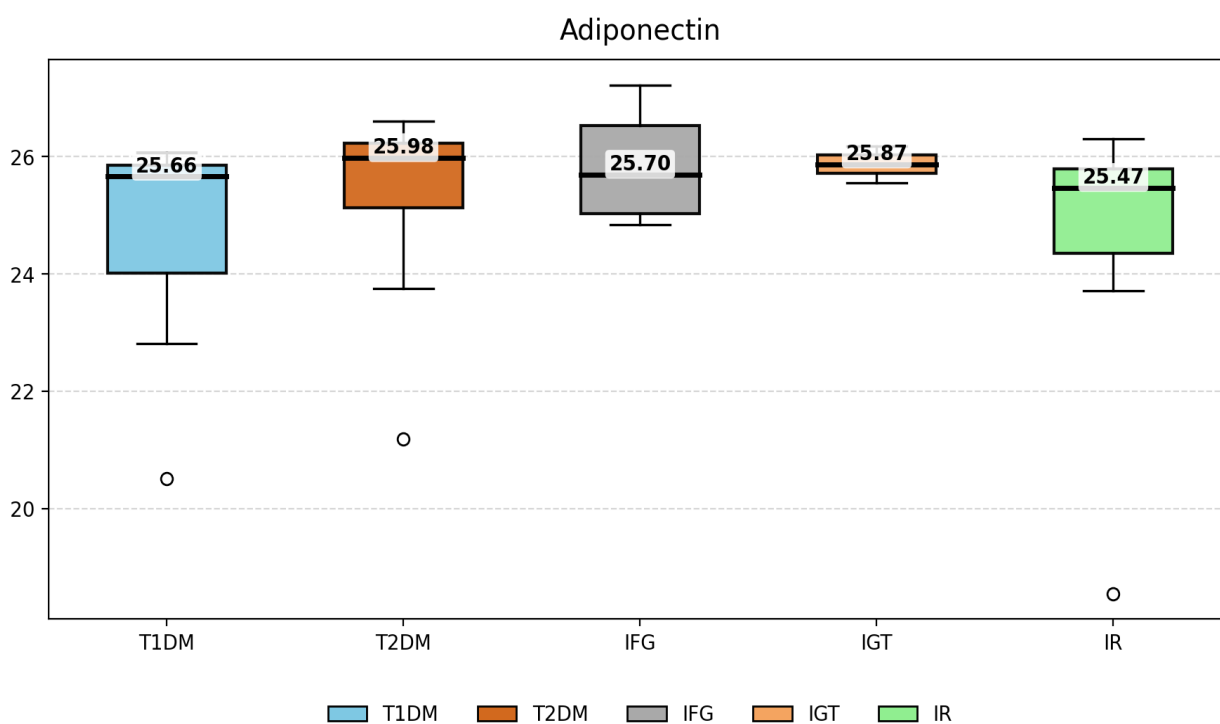
съотношението Adiponectin/Leptin (Група 1:  $r_s = -0.985$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.996$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.837$ ;  $p < 0.001$ ).

**Адипонектин.** Серумните нива на адипонектин са в референтния диапазон и не се различават статистически значимо между изследваните групи (Kruskal–Wallis  $H(2) = 4.065$ ;  $p = 0.131$ ) (Табл. 20).

GLM анализът (Gamma, log-link), коригиран за възраст и пол, също не отчита значими разлики: активен COVID vs MC ( $\beta = -0.08$ ;  $p = 0.090$ ), пост-COVID vs MC ( $\beta = -0.01$ ;  $p = 0.720$ ) и активен COVID vs пост-COVID групата ( $\beta = -0.06$ ;  $p = 0.086$ ). Вътрегруповият анализ по пол също не се установява значими различия ( $p > 0.05$ ).

При стратификация диабетен статус се установява сигнификантна разлика единствено в групата с MC, с по-ниски нива при диабетичите спрямо недиабетичите (Mann–Whitney  $U = 14.0$ ;  $p = 0.020$ ). При сравнение между съответстващите подгрупи единствената значима разлика е между недиабетичите с активна инфекция и недиабетичите с MC (Mann–Whitney  $U = 33.0$ ;  $p = 0.009$ ).

Подгруповият анализ в рамките на пост-COVID групата (Група 2) не разкрива значими различия според типа ВХ нарушение (Kruskal–Wallis  $H(2) = 3.3006$ ;  $p = 0.509$ ) (Фиг. 19).



**Фиг. 19.** Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на адипонектин в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР

Корелационният анализ установява, че в Група 2 нивата на адипонектин демонстрират в положителни корелации с HDL-C ( $r_s = 0.483$ ;  $p = 0.011$ ) и глюкагон ( $r_s = 0.398$ ;  $p = 0.020$ ), както и отрицателна корелация със съотношението Proinsulin/C-peptide ( $r_s = -0.443$ ;  $p = 0.012$ ). В Група 3 адипонектинът корелира отрицателно с HIF-1 $\alpha$  ( $r_s = -0.460$ ;  $p = 0.041$ ), C-пептид ( $r_s = -0.604$ ;  $p = 0.008$ ) и съотношението C-peptide/Glucose ( $r_s = -0.548$ ;  $p = 0.019$ ).

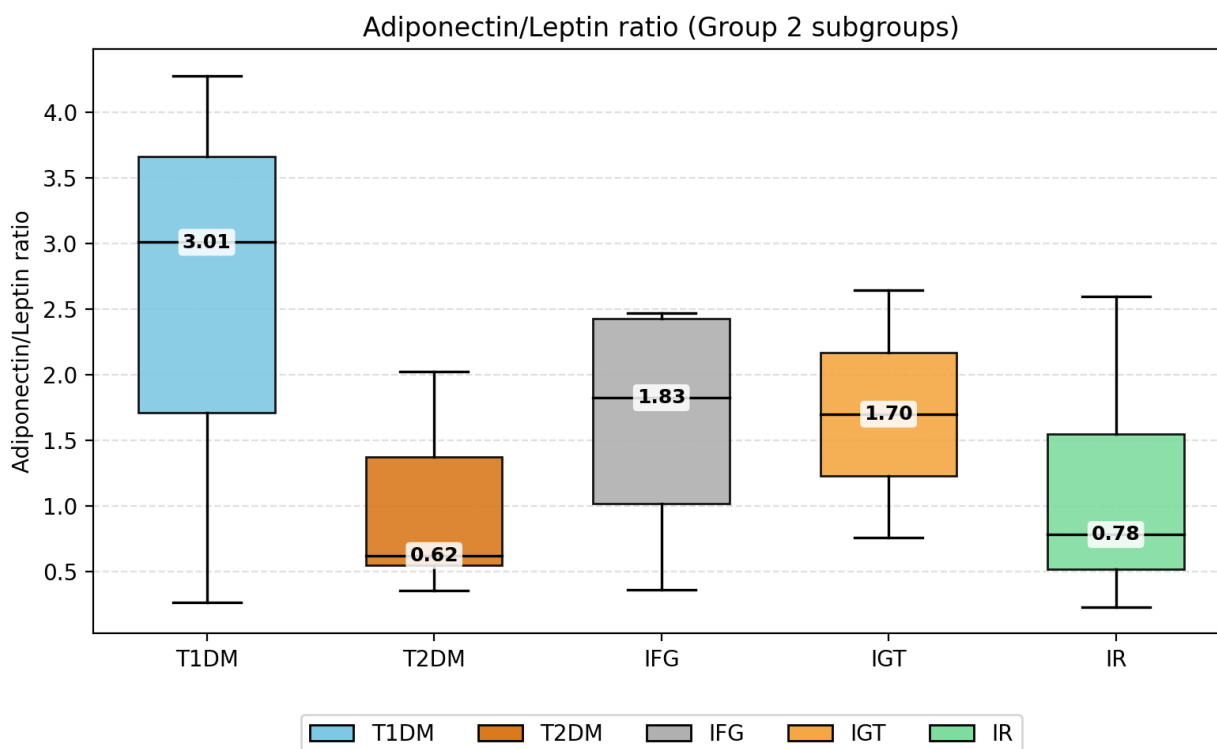
**Съотношението Адипонектин/Лептин (Adiponectin/Leptin ratio)** показва най-високи стойности при активен COVID, междинни при пост-COVID групата и най-ниски при референтната група с МС (Табл. 20). Междугруповият анализ установява статистически значими различия (Kruskal–Wallis  $H(2) = 10.475$ ;  $p = 0.005$ ), като двойните сравнения показват сигнификантна разлика единствено между Група 1 и 3 (Mann–Whitney  $U = 330.0$ ;  $p = 0.003$ ), без значими различия между Група 1 и 2 и между Група 2 и 3 ( $p > 0.05$ ).

След корекция за възраст и пол (GLM; Gamma, log-link) съотношението остава значимо по-високо както при активна инфекция ( $\beta = 1.24$ ;  $e^\beta = 3.47$ ; 95% CI: 1.57–7.67;  $p = 0.002$ ), така и в пост-COVID групата спрямо контролната група с МС ( $\beta = 0.69$ ;  $e^\beta = 1.99$ ; 95% CI: 1.20–3.30;  $p = 0.008$ ), без разлика между активна и пост-COVID група ( $\beta = 0.56$ ;  $p = 0.209$ ). Женският пол е независим предиктор за по-ниско съотношение ( $\beta = -1.40$ ;  $e^\beta = 0.25$ ; 95% CI: 0.13–0.48;  $p < 0.001$ ), докато възрастта не показва независима асоциация.

По отношение на тежестта на COVID-19 в Група 1 не се установяват статистически значими различия в съотношението Adiponectin/Leptin между четирите степени на протичане (Kruskal–Wallis  $H(3) = 6.03$ ;  $p = 0.110$ ). При допълнителен анализ обаче се установява, че пациентите с тежка форма на инфекцията ( $n = 16$ , 50%) демонстрират сигнификантно по-високи стойности на съотношението в сравнение с всички останали степени, разгледани общо (Mann–Whitney  $U = 111.0$ ;  $p = 0.029$ ).

Вътрегруповите сравнения по пол и диабетен статус в Група 1 не се установяват значими разлики ( $p > 0.05$ ), докато в Група 2 мъжете имат значимо по-високи стойности спрямо жените (Mann–Whitney  $U = 42.0$ ;  $p = 0.029$ ), без сигнификантни разлики по диабетен статус ( $p > 0.05$ ).

Подгруповият профил в Група 2 показва най-високи медиани при ЗД тип 1 и най-ниски при ЗД тип 2, а подгрупите НГГ, НГТ и ИР/хиперинсулинемия са със сходни и припокриващи се разпределения (Фиг. 20).



**Фиг. 20. Разпределение (Median; IQR) на серумните нива на съотношението Adiponectin / Leptin в подгрупите на Група 2 - ЗД тип 1/LADA, ЗД тип 2, НГГ, НГТ и ИР**

Корелационният анализ показва много силна отрицателна корелация със серумния лептин и в трите групи (Група 1:  $r_s = -0.985$ ;  $p < 0.001$ ; Група 2:  $r_s = -0.996$ ;  $p < 0.001$ ; Група 3:  $r_s = -0.837$ ;  $p < 0.001$ ). В Група 1 съотношението корелира отрицателно с проинсулин ( $r_s = -0.601$ ;  $p = 0.002$ ) и GLP-1 ( $r_s = -0.466$ ;  $p = 0.012$ ). В Група 2 се установяват отрицателна корелация с ИТМ ( $r_s = -0.434$ ;  $p = 0.012$ ) и положителна корелация с HbA1c ( $r_s = 0.473$ ;  $p = 0.026$ ). В Група 3 съотношението корелира отрицателно с ИТМ ( $r_s = -0.709$ ;  $p = 0.026$ ), плазмена глюкоза ( $r_s = -0.549$ ;  $p = 0.022$ ), инсулин ( $r_s = -0.739$ ;  $p = 0.002$ ), проинсулин ( $r_s = -0.806$ ;  $p < 0.001$ ), НОМА-IR ( $r_s = -0.796$ ;  $p < 0.001$ ), съотношението Proinsulin/C-peptide ( $r_s = -0.650$ ;  $p = 0.022$ ) и METS-IR ( $r_s = -0.596$ ;  $p = 0.012$ ), както и положително с QUICKI ( $r_s = 0.796$ ;  $p < 0.001$ ).

## **7. Анализ на рисковото действие на изследваните показатели по отношение на вероятността за развитие на ЗД в контекста на COVID-19 (ROC анализ)**

ROC анализът идентифицира комплексен профил от немодифицируеми, клинични, биохимични и имунологични показатели, асоциирани с повишен риск от развитие на ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция – както по време на активното заболяване, така и в пост-COVID периода (Табл. 21).

**Табл. 21. Обобщени резултати от ROC анализа за определяне на праговете (cut-off) стойности, асоциирани с повишен риск от развитие на Захарен диабет в контекста на експозиция на SARS-CoV-2**

| Показател                | Cut-off стойност | AUC (95% CI)             | p - value | Se (%) | Sp (%) | PPV (%) | NPV (%) |
|--------------------------|------------------|--------------------------|-----------|--------|--------|---------|---------|
| Възраст [год.]           | ≥ 54.5           | 0.625<br>(0.516 – 0.735) | 0.043     | 53.8   | 75.8   | 81.4    | 45.9    |
| IL-7 [ng/mL]             | ≤ 39.905         | 0.824<br>(0.724 – 0.925) | <0.001    | 80.0   | 71.9   | 72.7    | 79.3    |
| IL-17A [ng/mL]           | ≤ 26.624         | 0.695<br>(0.565 – 0.826) | 0.008     | 46.7   | 84.4   | 73.7    | 62.8    |
| IFN-γ [ng/mL]            | ≤ 7.293          | 0.768<br>(0.653 – 0.884) | <0.001    | 45.2   | 100.0  | 100.0   | 65.3    |
| TNF-α [ng/mL]            | ≥ 57.25          | 0.662<br>(0.529 – 0.796) | 0.027     | 45.2   | 100.0  | 100.0   | 65.3    |
| CD4 [ng/mL]              | ≥ 10.452         | 0.701<br>(0.573 – 0.829) | 0.006     | 36.7   | 93.9   | 84.6    | 62.0    |
| CD8 [ng/mL]              | ≤ 21.437         | 0.630<br>(0.502 – 0.759) | 0.040     | 62.3   | 62.5   | 60.6    | 64.2    |
| HCF-D [ng/mL]            | ≤ 1436.79        | 0.868<br>(0.777 – 0.960) | <0.001    | 66.7   | 96.7   | 95.5    | 74.4    |
| HIF-1α [pg/mL]           | ≥ 200.36         | 0.646<br>(0.510 – 0.782) | 0.048     | 83.9   | 38.7   | 98.0    | 44.9    |
| 8-epi- PGF2α [pg/mL]     | ≤ 58.523         | 0.788<br>(0.639 – 0.937) | 0.003     | 57.9   | 94.1   | 91.7    | 66.7    |
| K3 [mmol/L]              | ≥ 5.85           | 0.814<br>(0.702 – 0.926) | <0.001    | 83.3   | 75.8   | 75.8    | 83.3    |
| С-пептид [ng/mL]         | ≥ 0.4685         | 0.750<br>(0.614 – 0.886) | 0.002     | 71.0   | 80.0   | 80.0    | 69.0    |
| Глюкагон [pg/mL]         | ≤ 6802.55        | 0.797<br>(0.669 – 0.925) | <0.001    | 75.0   | 85.7   | 87.5    | 72.0    |
| GP-73 [ng/mL]            | ≤ 37.434         | 0.672<br>(0.521 – 0.823) | 0.044     | 66.7   | 73.7   | 80.0    | 58.3    |
| Leptin [ng/mL]           | ≤ 10.283         | 0.767<br>(0.636 – 0.897) | 0.002     | 46.7   | 100.0  | 100.0   | 54.3    |
| НОМА-IR                  | ≥ 3.324          | 0.706 (0.561 – 0.851)    | 0.010     | 85.7   | 52.0   | 66.7    | 76.5    |
| НОМА-B                   | ≤ 149.69         | 0.304<br>(0.160 – 0.448) | 0.015     | 63.0   | 76.0   | 73.9    | 65.5    |
| С-peptide /Glucose ratio | ≥ 0.0985         | 0.670<br>(0.520 – 0.820) | 0.034     | 57.1   | 84.0   | 80.0    | 63.6    |
| Adiponectin/Leptin ratio | ≥ 0.722          | 0.748<br>(0.606 – 0.890) | 0.005     | 72.7   | 70.6   | 80.8    | 60.0    |

определената прагова (cut-off) стойност; Se – чувствителност; Sp – специфичност; PPV – положителна предиктивна стойност, NPV – отрицателна предиктивна стойност.

С отлична диагностична стойност ( $AUC > 0.80$ ) се открояват HCF-D ( $AUC = 0.868$ ), IL-7 ( $AUC = 0.824$ ) и глюкозата на гладно ( $AUC = 0.814$ ). С добра дискриминационна способност ( $AUC 0.70-0.80$ ) са IFN- $\gamma$  (0.768), лептин (0.767), C-пептид (0.750), съотношението Adiponectin/Leptin (0.748), HOMA-IR (0.706) и CD4 (0.701), както и 8-epi-PGF2 $\alpha$  (0.788) и глюкагон (0.797, гранично към отлична стойност). С умерена или гранична дискриминационна стойност ( $AUC 0.60-0.70$ ) се установяват възрастта (0.625), CD8 (0.630), HIF-1 $\alpha$  (0.646), TNF- $\alpha$  (0.662), GP-73 (0.672), съотношението C-peptide/Glucose (0.670) и IL-17A (0.695), което показва по-ограничена самостоятелна предиктивна способност.

Под нивото на случайна дискриминация ( $AUC < 0.50$ ) се установява единствено HOMA-B ( $AUC = 0.304$ ). Ниската стойност отразява обратна посока на зависимостта – по-ниските стойности на HOMA-B са асоциирани с по-висок риск. При инвертиране на посоката индексът би демонстрирал добра дискриминационна способност, поради което  $AUC < 0.50$  не означава липса на клинична значимост, а противоположна асоциация спрямо изхода.

#### **8. Оценка качеството на живот при лицата, преболедували COVID-19, чрез използване на валидиран въпросник (SF-36).**

При лицата от група 2 ( $n = 35$ ) резултатите от анкетното проучване със стандартизирания въпросник SF-36 показват съществено засягане на качеството на живот в физическия, емоционалния и социалния домейн.

Близко половината от участниците оценяват общото си здраве като добро, докато около една трета съобщават за влошаване на здравословното състояние спрямо периода преди инфекцията.

Леките до умерени ограничения в ежедневните дейности са често срещани, като сериозни физически ограничения се отчитат при 20–42% от лицата, най-вече при дейности, изискващи по-голямо физическо усилие.

Ограничения в работоспособността и обичайните активности се съобщават от приблизително 60% от анкетираните, а около 70% посочват негативно влияние на емоционалното състояние върху ежедневното функциониране.

Данните за психоемоционалния статус показват висока честота на умора и депресивни симптоми – около 20% съобщават за постоянна умора, над 50% за депресивни преживявания, а 62% се самооценяват като изтощени през значителна част от времето.

Социалните контакти са умерено или значимо ограничени при приблизително 35–40% от лицата, като едва 40% се определят като щастливи, а само 8.5% оценяват здравето си като отлично.

## **ОБСЪЖДАНЕ**

### **1. Обща клинична и метаболитна характеристика на изследваната популация**

#### **1.1. Обща клинична характеристика**

По-високата средна възраст при лицата с активна SARS-CoV-2 инфекция е в съответствие с публикувани данни, според които напредналата възраст е независим рисков фактор за тежко протичане и хоспитализация при COVID-19 [343]. Сходният възрастов профил между преболедувалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна и референтната група с МС минимизира вероятността възрастта да действа като смущаващ фактор при анализа на пост-COVID метаболитните промени.

Доминирането на женския пол в повечето групи вероятно отразява по-честото участие на жените в клинични проучвания, докато по-високият относителен дял на мъжете при активната инфекция е в съответствие с данните за по-тежко клинично протичане на COVID-19 при мъжкия пол. Повишената честота на фамилна анамнеза за ЗД при преболедувалите и при лицата с МС подкрепя концепцията за наличието на предшестващ метаболитен риск, върху който SARS-CoV-2 инфекцията може да действа като отключващ или модифициращ фактор.

#### **1.2. Метаболитна характеристика на изследваната популация**

Получените резултати са в съответствие с утвърдената роля на затлъстяването и метаболитния дисбаланс във формирането на ВХ нарушения както при активна, така и в пост-COVID фазата на SARS-CoV-2 инфекцията. Наблюдаваните разлики между изследваните групи очертават различен метаболитен профил в отделните фази на инфекцията.

По-високият дял на затлъстяване и особено на морбидно затлъстяване при неболедувалите лица с МС (Група 3) отразява добре утвърдения патофизиологичен

модел на хронична ИР, асоциирана с изразен адипозно-индуциран възпалителен фон. Това е в съответствие с данните, че напредналото затлъстяване представлява централен детерминант на МС и прогресията към ЗД тип 2 [14].

От друга страна, при преболелите лица с нововъзникнали ВХ нарушения (Група 2) се установява по-нисък среден ИТМ и по-малък дял на морбидно затлъстяване, което подкрепя хипотезата, че при тази популация SARS-CoV-2 инфекцията може да действа като тригер за отключване на глюкозни нарушения при наличие на субклинична метаболитна уязвимост. Същественото присъствие на нововъзникнал ЗД тип 1 (вкл. LADA) в тази група повдига хипотезата за възможно участие на вирус-индуцирани автоимунни и възпалителни механизми, описани при COVID-19 [35, 197].

Липсата на статистически значима разлика в средните стойности на ИТМ между Групи 2 и 3 подчертава ограничената диагностична стойност на ИТМ като самостоятелен маркер за метаболитен риск и подкрепя необходимостта от комплексна оценка, включваща хормонални, възпалителни и функционални показатели. В този контекст сигнификантно по-високият ИТМ при диабетичите от Група 3 в сравнение с тези от Група 2 може да отразява различна давност и механизъм на  $\beta$ -клетъчна дисфункция – хронична при МС срещу вероятно по-остра и възпалително-медирана при пост-COVID състоянията.

При пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция (Групи 1 и 4) високата честота на ЗД, включително значителният дял на новодиагностицирани случаи по време на хоспитализацията, подкрепя концепцията за остро инфекциозно-индуцирано нарушение на глюкозната хомеостаза. Тези наблюдения са в съзвучие с данните, че SARS-CoV-2 може да индуцира транзиторна или персистираща хипергликемия чрез комбинирано действие на системно възпаление, хипоксия, цитокин-медирана ИР и директно  $\beta$ -клетъчно увреждане [197, 343].

Липидният профил допълнително отразява динамиката на метаболитната дисрегулация. Най-изразени нарушения в липидния профил се установяват при лицата с активна инфекция (Група 4), характеризира се с изразена хипертриглицеридемия и подчертано ниски нива на HDL-C. Този профил съответства на описаната при COVID-19 вирус-индуцирана дислипидемия, асоциирана с тежестта на инфекцията и системния възпалителен отговор [256].

В пост-COVID групата (Група 2) липидните нарушения са по-умерено изразени, което предполага частично възстановяване на липидната хомеостаза след острата фаза, но и персистиращ метаболитен риск, особено при лицата с ИР и хиперинсулинемия. За разлика от това, при неболедувалите лица с МС (Група 3) се наблюдава типичен атерогенен липиден профил, отразяващ хроничната метаболитна дисрегулация, независима от вирусна инфекция.

Най-високи средни стойности на пикочната киселина се наблюдават в групата с МС, което допълнително подкрепя връзката между ИР, адипозното възпаление и пуриновия метаболитизъм, като потенциален допълнителен механизъм за повишен кардиометаболитен риск.

В обобщение, получените резултати са съвместими с концепцията, че SARS-CoV-2 инфекцията може да действа като мултифакторен метаболитен стресор, способен да ускори или отключи ВХ и липидни нарушения при предразположени индивиди. Наблюдаваните различия между групите предполагат вариабилност на механизмите в зависимост от фазата на инфекцията и предшестващия метаболитен статус.

## **2. Оценка на основни параметри на липидния профил и други ключови метаболитни показатели, както и състоянието на чернодробната функция, в различните фази на инфекцията.**

### **2.1. Основни липидни и други метаболитни параметри**

Получените резултати очертават различен профил на липидни нарушения в отделните фази на инфекцията, при който активната SARS-CoV-2 инфекция е асоциирана с най-изразени отклонения, докато пост-COVID състоянието при лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна демонстрира липиден профил, съпоставим с този при COVID-негативни лица с МС.

Най-устойчивата находка е значимото понижениe на общия холестерол при активна инфекция, което се запазва и след корекция за възраст и пол чрез обобщени линейни модели, са в съответствие с концепцията за възпалителна хипохолестеролемия като част от острия системен отговор при COVID-19 [173, 428].

Наблюдаваните по-високи стойности на ТГ и подчертано ниските нива на HDL-C при активната фаза са в съответствие с описания възпалително-индуциран дислипидемичен фенотип, свързан с цитокин-медирано повишено чернодробно производство на VLDL

и нарушения в липидния транспорт [202, 428]. Отпадането на част от тези различия след корекция за демографски фактори предполага, че възрастта, полът и подлежащият метаболитен риск модулират изявата на дислипидемията и че острият инфекциозен процес не води задължително до класическа атерогенна дислипидемия. Липсата на съществени разлики в LDL-C между групите допълнително подкрепя тезата, че LDL-C не се очептава като водещ маркер на острите метаболитни промени при COVID-19.

По отношение на пикочната киселина, значимо по-ниските ѝ нива при активна инфекция, запазващи се след корекция за възраст и пол, вероятно отразяват повишен оксидативен и възпалителен стрес, при който пикочната киселина функционира като циркулиращ антиоксидант и се „изчерпва“ в хода на острия процес [22, 149].

Допълнително, промени в бъбречната екскреция на урати, намален хранителен прием и системното възпаление са описани като механизми за транзиторна хипоурикемия при остри инфекции, включително COVID-19 [79, 130]. За разлика от това, сходните нива на пикочна киселина при пост-COVID пациентите и лицата с MC са в съответствие с добре установената връзка между ИР и хиперурикемия при хронична метаболитна дисрегулация [186].

В обобщение, настоящите резултати подкрепят разбирането, че SARS-CoV-2 инфекцията действа като остър метаболитен „модификатор“, водещ до преходни, фазово-зависими промени в липидния и пуриновия метаболизъм, докато в постинфекционната фаза метаболитният профил се определя основно от подлежащия кардиометаболитен риск.

Установените корелационни зависимости подчертават централната роля на възрастта, затлъстяването и ИР като ключови детерминанти на метаболитната дисрегулация, независимо от COVID-19 статуса. Консистентната положителна корелация между възрастта и HIF-1 $\alpha$  във всички групи са в съответствие с хипотезата за участието на клетъчната хипоксия като общ патофизиологичен механизъм, който се засилва с напредване на възрастта и допринася за метаболитна и съдова дисфункция [291].

Силните връзки между ИТМ и основните индекси за ИР, както и с адипокиновия дисбаланс (понижено съотношение Adiponectin/Leptin), са в съответствие с утвърдената роля на затлъстяването като интегрален фактор в патогенезата на ИР и свързания кардиометаболитен риск [139, 155, 330]. Наблюдаваните корелации между ТГ, производните им индекси (TyG, TG/HDL-C ratio) и HDL-C отразяват класически

атерогенен липиден профил при хронична метаболитна дисфункция [147, 269], докато при активна SARS-CoV-2 инфекция тези зависимости вероятно се модифицират от острия възпалителен и системен стрес [202, 428].

Установената връзка между пикочната киселина и METS-IR, както и с чернодробните трансминази при преболедувалите пациенти, може да отразява персистиращ метаболитно-чернодробен дисбаланс в пост-COVID периода [186, 258], докато асоциацията с възрастта при активна инфекция вероятно отразява преходни промени, свързани с възпаление и нарушена бъбречна хомеостаза [424].

В обобщение, настоящите резултати са в съответствие с концепцията, че SARS-CoV-2 инфекцията е асоциирана с преходни, фазово-специфични промени в липидния и пуриновия метаболизъм. В постинфекционната фаза метаболитният профил изглежда се определя предимно от подлежащия кардиометаболитен риск.

## **2.2. Хепато-биларна функция**

Получените резултати са в съответствие с данни, че чернодробното засягане е честа характеристика на SARS-CoV-2 инфекцията, като най-изразени отклонения се наблюдават в острия фаза на заболяването. Повишените нива на ASAT при пациентите с активен COVID-19, в сравнение с преболедувалите и COVID-негативните лица с MC, са в съответствие с публикувани данни, че ASAT е по-чувствителен маркер за тежестта на инфекцията и системното възпаление, отколкото ALAT [65, 121, 253].

Липсата на сигнификантни различия в нивата на ALAT между активния и пост-COVID периода е съвместима с възможността за персистиращо хепатоцелуларно засягане, вероятно свързано с метаболитен стрес и нискостепенно възпаление [124, 252].

Високите и вариабилни стойности на GGT при активно болните пациенти могат да се разглеждат като отражение на холестатичен компонент на чернодробното увреждане и подкрепят концепцията за комбинирано хепатоцелуларно и холангиоцелуларно засягане при COVID-19 [253, 361, 440].

Установените корелации между чернодробните ензими и възпалителни медиатори, включително IL-17A и LDH, подкрепят хипотезата за участие на системния имуно-възпалителен отговор в патогенезата на чернодробната дисфункция по време на активната инфекция и в пост-COVID периода [121, 272, 452].

### **3. Проследяване на възпалителен статус, участието на проинфламаторните и антиинфламаторните цитокини, както и на други маркери на имунно възпаление**

#### **3.1. Възпалителен статус и клинична тежест**

Получените резултати показват, че в изследваните хоспитализирани кохорти преобладават тежките и критичните форми, което е в съответствие със силно изразен системен възпалителен отговор и мултиорганен стрес.

По-високите стойности на CRP и LDH в изходната кохорта (Група 4) в сравнение с Група 1, вероятно са израз на различия в тежестта на клиничното протичане и/или пандемичния период (вкл. различни вирусни варианти и терапевтични подходи), като LDH се очертава като потенциално чувствителен индиректен маркер за тъканно увреждане и хипоксично-възпалителен стрес.

Наличието на значима, макар и слаба, корелация между LDH и клиничната тежест в Група 4 подкрепя ролята му като показател, подкрепя ролята му като динамичен биохимичен показател, асоцииран с клиничната тежест на заболяването.

Фибриногенът, въпреки липсата на директна зависимост от тежестта, демонстрира устойчива връзка с CRP и в двете активни групи, което е в съответствие с възприемането му като възпалително-медиран хемостатичен маркер, отразяващ имунокоагулаторната активация при COVID-19.

Повишеният D-димер и в двете кохорти, при отсъствие на значима междугрупова разлика по медиана, е съвместимо с активирана коагулационна система при хоспитализирани пациенти, като установените корелации на D-димера с LDH и GP-73 в Група 1 насочват към възможно взаимодействие между възпаление, клетъчно увреждане и метаболитна дисрегулация още в острия стадий на COVID-19.

Връзката между диабета и клиничния ход се проявява различно в двете групи: в Група 1 ЗД се асоциира предимно с по-дълъг болничен престой, докато в Група 4 се наблюдава асоциация между ЗД и по-тежко протичане и неблагоприятен изход, което е в съответствие с концепцията за утежнен метаболитен фон при пациенти с подлежаща дисгликемия.

### 3.2. Про- и антиинфламаторни цитокини

Анализът на проинфламаторните цитокини показва, че SARS-CoV-2 инфекцията е асоциирана с изразени промени в цитокиновия профил, които се различават между острата и пост-COVID фазата.

Повишените нива на TNF- $\alpha$  както при активна инфекция, така и при преболедевалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна, са съвместими с наличие на продължаваща нискостепенна възпалителна активация след вирусния клирънс, надхвърляща рамките на острия „цитокинов отговор“ [91, 219, 324]. Статистически значимото повишение на TNF- $\alpha$  в пост-COVID групата е в съответствие с хипотезата, че този цитокин може да участва в поддържането на хроничен възпалителен фон, потенциално свързан с развитие на ИР и  $\beta$ -клетъчна дисфункция [181, 402].

IL-17A демонстрира различен профил, характеризиращ се с понижени стойности както в острата, така и в пост-острата фаза, което насочва към потискане на Th17-медираните имунни пътища в изследвания момент и нарушено възстановяване на адаптивния имунен отговор след преболеждане [364].

Понижените нива на IFN- $\gamma$  в пост-COVID периода, независимо от диабетния статус, са съвместими с редуцирана Th1-медирана антивирусна активност, което може да отразява продължаваща имунна дисрегулация и да бъде свързано с метаболитен риск [47, 78, 136].

В съвкупност тези наблюдения подкрепят хипотезата, че цитокиновият профил след COVID-19 може да остане променен и след острата фаза, като преминава към състояние на нискостепенна имунна активация с потенциална имунометаболитна значимост [280, 325, 412].

Наред с проинфламаторните медиатори, анализът на антиинфламаторните и имунорегулаторни цитокини разкрива допълнителни аспекти на имунната регулация при COVID-19.

Понижените нива на IL-7 както при активна инфекция, така и в пост-COVID периода, в сравнение с COVID-негативните лица с МС, насочват към нарушение на IL-7-медираните механизми на Т-клетъчна хомеостаза [21, 76, 246]. Предвид ключовата роля на IL-7 за преживяемостта и функционалния капацитет на CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитите, тези данни подкрепят концепцията за продължителна Т-клетъчна

дисрегулация след SARS-CoV-2 инфекция, която би могла да допринася за персистираща възпалителна активност и нарушена имунна регулация в пост-COVID периода [123, 280].

Относително високите стойности на IL-7 при COVID-негативните лица с МС са в съзвучие с концепцията за хронична нискостепенна имунна активация при метаболитни нарушения, докато потискането на IL-7 в COVID-свързаните групи подчертава доминиращия ефект на вирусната инфекция върху регулацията на този цитокин [89, 127, 325]. Установените корелации между IL-7, маркери на Т-клетъчния имунитет, антиоксидантната защита и индексите за ИР допълнително подкрепят участието на IL-7 в имунометаболитния континуум, свързващ възпалението с нарушенията в глюкозната хомеостаза след COVID-19 [351, 381].

По отношение на IL-10, резултатите не показват ясно изразени междугрупови различия, въпреки тенденцията към по-високи стойности по време на активната фаза на инфекцията. Това е предполага вариабилен противовъзпалителен отговор, който може да не е достатъчен за пълно ограничаване на хипервъзпалителните процеси при част от пациентите [68, 135, 177]. Понижените абсолютни нива на IL-10 във всички изследвани групи, включително при активна инфекция, са в съответствие с данни за компрометирана противовъзпалителна регулация при лица с МС и ИР [125, 351].

Корелациите между IL-10 и показатели на гликемичния контрол,  $\beta$ -клетъчната функция и индексите за ИР в пост-COVID групата подкрепят хипотезата, че IL-10-медираната регулация е свързана с имунометаболитните промени след преболедуване от SARS-CoV-2 [268, 394]. В този контекст IL-10 не се очертава като изолиран защитен фактор, а като компонент на по-широка имунорегулаторна мрежа, чиито промени могат да бъдат асоциирани с персистиращ имунометаболитен дисбаланс.

В рамките на пост-COVID групата (Група 2) се наблюдават различия в цитокиновия профил между подгрупите според типа ВХ нарушение. По-високите нива на TNF- $\alpha$  и по-ниските стойности на IFN- $\gamma$  и IL-17A при лицата с новодиагностициран ЗД са в съответствие с по-изразен имунометаболитен дисбаланс спрямо подгрупите с предиабет и изолирана ИР.

В обобщение, съчетанието от повишена проинфламаторна активация (TNF- $\alpha$ ), понижени Th1/Th17-медиранни маркери (IFN- $\gamma$ , IL-17A) и промени в ключови имунорегулаторни цитокини (IL-7 и IL-10) очертава сложен имунен профил след SARS-CoV-2 инфекция.

Тези промени вероятно участват в имунометаболитните механизми, асоциирани с пост-COVID метаболитните нарушения, включително ИР и  $\beta$ -клетъчна дисфункция, и са в съответствие с концепцията за COVID-19 като потенциален тригер на дългосрочни имунометаболитни последици [280, 325, 412].

### **3.3. Маркери на клетъчно медиран имунен отговор и системата на комплемента**

Получените резултати показват, че SARS-CoV-2 инфекцията е асоциирана с изразени, фазово-зависими промени в клетъчно-медирания имунен отговор и системата на комплемента.

Повишените нива на CD4 както по време на активната инфекция, така и в пост-COVID периода, са съвместими с продължаваща Th-клетъчна активност след клиничното оздравяване, в съзвучие с данни за продължителна T-клетъчна имунна активация при COVID-19 [99, 182, 336]. Тези находки могат да отразяват промени в имунната хомеостаза и да бъдат свързани с поддържане на нискостепенна възпалителна активност.

За разлика от CD4, понижените нива на CD8 при активната инфекция и тенденцията към частично възстановяване в пост-COVID периода насочват към редуцирана цитотоксична T-клетъчна активност. Подобен дисбаланс между Th- и Tc-клетъчните отговори е описан при COVID-19 и се асоциира с нарушен антивирусен контрол и продължителна имунна дисфункция [142, 208, 457]. Установените връзки между CD8 и показателите за  $\beta$ -клетъчна функция подкрепят възможна асоциация между цитотоксичния T-клетъчен имунитет  $\beta$ -клетъчното засягане по време на SARS-CoV-2 инфекцията, по аналогия с механизми, описани при други вирус-индуцирани форми на диабет [47, 136].

Особено значим е наблюдаваният профил на HCF-D, който показва изразено и персистиращо потискане на алтернативния път на комплемента в пост-COVID периода. За разлика от хронично повишената комплементна активност при MC, наблюдавана при неболедувалите контроли, SARS-CoV-2 инфекцията се асоциира с понижена активност на комплементната система, най-изразена след преболедуване [75, 169, 336]. Тази находка може да бъде интерпретирана като възможна компенсаторна регулация или функционално изчерпване на алтернативния път след острата фаза, както е описано и в други проучвания [102, 196, 367].

В съвкупност данните показват, че клетъчно-медиаторният имунен отговор и системата на комплемента са асоциирани с имунометаболитните промени след SARS-CoV-2 инфекция. Дисбалансът между Th- и Tc-клетъчната активност, съчетан с понижена комплементна активност, е съвместим с имунно-дисрегулирана среда, която може да бъде свързана с  $\beta$ -клетъчна дисфункция и развитие на нарушения във ВХ обмяна след SARS-CoV-2 инфекция [280, 325, 412].

#### **4. Маркери на оксидативен стрес, антиоксидантна защита и вирус-индуцирана клетъчна хипоксия**

Резултатите очертават модел, при който наблюдаваните промени са съвместими с продължаващ оксидативен дисбаланс в пост-COVID периода, докато антиоксидантният отговор (NFE2L2) не показва отчетлива групова динамика, но демонстрира висока вариабилност и зависимост от типа ВХ нарушение. Тази интерпретация е в съзвучие с данни за ролята на оксидативния стрес и нарушената редокс-хомеостаза в патогенезата на COVID-19 и неговите постинфекциозни последици [39, 140, 294, 305, 412].

Повишението на 8-epi-PGF2 $\alpha$  в пост-COVID групата, както и установената му връзка с глюкоза на гладно, насочват към възможна асоциация между оксидативния стрес и нарушенията в гликемичния контрол след инфекцията, като 8-epi-PGF2 $\alpha$  се приема за надежден *in vivo* маркер на липидна пероксидация и системен оксидативен стрес [316, 334]. Най-високите стойности при лицата с МС са в съответствие с данни, че хроничният метаболитен стрес поддържа прооксидантна среда [396], докато COVID-19 може да действа като допълнителен утежняващ фактор при метаболитно уязвими индивиди [412].

По отношение на клетъчната хипоксия, повишените стойности на HIF-1 $\alpha$  в острия период са съвместими с изразен хипоксичен стрес по време на инфекцията и с ролята му като ключов регулатор на клетъчния отговор към хипоксия при COVID-19 [69, 112, 429]. Наблюдаваното му понижение в пост-COVID групата, паралелно със значими асоциации с HbA1c, глюкоза, глюкагон и индексите за ИР, насочва към участие на хипоксичната сигнализация в метаболитните промени след преболедуване, като подобни връзки между HIF-1 $\alpha$ , възпалението и метаболитната дисрегулация са описани и от други автори [156, 394].

Съпоставени, данните подкрепят концепция за несъответствие между повишен прооксидантен товар и относително хетерогенен антиоксидантен отговор на фона на

променена хипоксична сигнализация, което създава условия за метаболитна среда, асоциирана с ИР и  $\beta$ -клетъчна дисфункция и може да бъде свързано с развитието на нововъзникнали нарушения в глюкозния метаболизъм [282, 412].

## **5. Оценка на глюкозната хомеостаза в острата фаза на COVID-19 и в безсимптомния пост-COVID период, чрез анализ на панкреасната $\alpha$ - и $\beta$ -клетъчна функция, инсулиновата секреция и инсулиновата чувствителност**

### **5.1. Основни параметри на глюкозната хомеостаза**

Получените резултати показват, че нарушенията в глюкозната хомеостаза имат различен профил в острата и пост-COVID фазата, като във втората група са включени лица с вече манифестирани нововъзникнали нарушения на ВХ метаболизъм след инфекцията. Повишените стойности на КЗ на гладно в тази група, както и независимото им увеличение спрямо контролната група с МС след корекция за възраст и пол, насочват към формирана и клинично значима метаболитна дисрегулация, а не към преходен постинфекциозен ефект. Тези находки са в съзвучие с публикувани данни за повишен риск от новооткрит диабет и персистиращи нарушения в глюкозния метаболизъм след SARS-CoV-2 инфекция [442].

За разлика от това, при активната инфекция повишените гликемични стойности могат да бъдат интерпретирани в контекста на остър стрес и възпалителен отговор. Данните от динамичното проследяване в изходната кохорта с активен COVID-19 показват, че както средната гликемия, така и гликемичната вариабилност корелират с тежестта на инфекцията и с индексите за ИР, което е в съответствие с наблюденията за неблагоприятно влияние на хипергликемията върху клиничния изход при хоспитализирани пациенти с COVID-19 [460].

Фактът, че във втората група всички лица са с нововъзникнали ВХ нарушения, обяснява по-високите стойности на HbA1c и установените му връзки с показателите за  $\beta$ -клетъчна функция и ИР. Това подкрепя хипотезата, че след SARS-CoV-2 инфекция при част от пациентите може да се формира относително устойчив метаболитен фенотип, характеризиращ се с комбинирано участие на ИР и  $\beta$ -клетъчна дисфункция.

Регистрираната честота на новооткрит ЗД в острата фаза допълнително подкрепя възможността вирусната инфекция да действа като тригер за манифестиране или ускоряване на подлежащи метаболитни нарушения при предразположени индивиди.

В обобщение, данните подкрепят концепцията, че при част от пациентите SARS-CoV-2 инфекцията може да действа като тригер за манифестиране или ускоряване на подлежащи метаболитни нарушения, докато в острата фаза гликемичните отклонения по-скоро отразяват интензитета на системния възпалителен и стресов отговор.

## **5.2. Анализ на панкреасната $\alpha$ - и $\beta$ -клетъчна функция**

Получените резултати показват, че SARS-CoV-2 инфекцията е асоциирана с комплексни промени в островноклетъчната функция, при които  $\beta$ -клетъчните нарушения имат водещо значение за наблюдаваната метаболитна дисрегулация.

Потиснатата глюкагонова секреция както в острата, така и в пост-COVID фазата, в контраст с по-високите нива при класическия МС, насочва към възможно специфично засягане на  $\alpha$ -клетъчната регулация в контекста на вирусната инфекция, вероятно свързано с имунно-възпалителни и хипоксични механизми. Липсата на съществена разлика между активната и пост-COVID фазата предполага, че тези промени не са ограничени единствено до острия период.

От страна на  $\beta$ -клетките се установява изразена дисоциация между инсулин, С-пептид и проинсулин, характеризираща се с персистиращо повишени нива на С-пептид при относително по-ниска базална инсулинемия както при активна инфекция, така и в пост-COVID групата, спрямо контролната група с МС. Този профил предполага, че наблюдаваното повишение на С-пептид отразява засилена ендогенна секреция на инсулин, вероятно в условията на компенсаторен  $\beta$ -клетъчен отговор, като относително по-ниската инсулинемия може да е свързана и с различия в инсулиновия клирънс или периферната чувствителност, а не единствено с изолирана инсулинова резистентност. Подобни механизми са съвместими с данни за ролята на чернодробната стеатоза и системното възпаление в регулацията на инсулиновия метаболизъм [451].

Липсата на сигнификантна и персистираща постинфекционна хиперпроинсулинемия насочва към по-скоро функционален и динамичен  $\beta$ -клетъчен стрес, отколкото към трайно нарушение в процесинга на проинсулина, като подобни промени са описани преимуществено в острата фаза на инфекцията [48].

В рамките на селектираната пост-COVID група с нововъзникнали ВХ нарушения се наблюдава хетерогенност, като най-ниските стойности на С-пептид при лицата със ЗД тип 1 са съвместими с по-изразено  $\beta$ -клетъчно изчерпване в инсулинопеничните форми,

докато при останалите подгрупи се запазва профил на повишена ендогенна секреция. Дисоциацията между проинсулин и С-пептид при инсулинопеничните форми на новооткрит диабет е в съответствие с описаните механизми на ранно  $\beta$ -клетъчно изчерпване и нарушена хормонална обработка [280].

Установените корелации между  $\beta$ -клетъчните показатели и маркери на възпаление, оксидативен стрес и клетъчна хипоксия (IFN- $\gamma$ , CD8, NFE2L2, HIF-1 $\alpha$ ) допълнително подкрепят мултифакторния характер на наблюдаваните промени. Данните насочват към взаимодействие между имунна активация, оксидативен стрес и хипоксична сигнализация в поддържането на нарушена островноклетъчна регулация. В този контекст  $\beta$ -клетъчната дисфункция се очертава като ключов елемент в патофизиологичния модел на пост-COVID метаболитната дисрегулация и вероятен медиатор между имунометаболитния стрес и нарушената глюкозна хомеостаза [297].

В обобщение, резултатите очертават профил на модифицирана  $\alpha$ -клетъчна регулация и персистираща повишена ендогенна  $\beta$ -клетъчна активност при селектирана популация с нововъзникнали нарушения след SARS-CoV-2 инфекция, без доказателства за доминиращ траен дефект в проинсулиновия процесинг, което подкрепя по-скоро динамичен и мултифакторен механизъм на островноклетъчна дисфункция.

### **5.3. Сурогатни индекси за $\beta$ -клетъчна функция**

Анализът на сурогатните индекси за  $\beta$ -клетъчната функция разкрива различни, фазово-зависими модели на  $\beta$ -клетъчна адаптация при активна SARS-CoV-2 инфекция, пост-COVID метаболитни нарушения и класически МС.

Повишените стойности на HOMA-B и на съотношението C-peptide/Glucose в COVID-свързаните групи, потвърдени и след корекция за възраст и пол, насочват към съхранен или компенсаторно активиран  $\beta$ -клетъчен секреторен отговор в условията на повишена ИР, без съществена разлика между острата и пост-COVID фазата.

За разлика от това, неболедувалите лица с МС демонстрират профил, характерен за хронично  $\beta$ -клетъчно натоварване, с по-ниско съотношение Insulin/Proinsulin и по-високо Proinsulin/C-peptide, което е съвместимо с по-изразено нарушение в инсулиновия процесинг при продължителна метаболитна дисрегулация [339].

Ниските стойности на съотношението Proinsulin/C-peptide в пост-COVID групата, както и липсата на значима хиперпроинсулинемия, предполагат отсъствие на персистираща

диспропорционална хиперпроинсулинемия и относително съхранен инсулинов процесинг след отзвучаване на острия инфекциозен стрес.

Корелационните зависимости – отрицателните връзки на HOMA-B с глюкоза, HbA1c и TyG индекс в пост-COVID групата и различният профил на асоциации при MC – допълнително подчертават различния патофизиологичен контекст в отделните популации.

В съвкупност, резултатите подкрепят тезата, че нарушенията в глюкозната хомеостаза при COVID-19 са доминирани от ИП и хетерогенна  $\beta$ -клетъчна адаптация, а не от универсална и трайна първична  $\beta$ -клетъчна недостатъчност [280], като изразът на  $\beta$ -клетъчната дисфункция остава фенотипно зависим.

#### **5.4. Сурогатни индекси за ИП**

Резултатите от анализа на ИП чрез различни сурогатни индекси показват, че ИП представлява водещия метаболитен дефект в хода на SARS-CoV-2 инфекцията, като нейната изява и тежест са ясно фазово-зависими.

Най-неблагоприятен профил се установява в острата фаза на инфекцията, докато в пост-COVID периода се очертава тенденция към частично възстановяване на инсулиновата чувствителност, но без пълна нормализация спрямо неболедувалите лица с MC.

Инсулин-базираните индекси демонстрират различна информативност при оценката на тези промени. Въпреки че HOMA-IR не отчита статистически значими междугрупови различия след корекция за възраст и пол, индексът QUICKI разкрива по-ясно изразен градиент, с най-ниски стойности при активна SARS-CoV-2 инфекция и значими разлики спрямо останалите групи. Това предполага, че при остра инфекция динамичната ИП и съпътстващите хормонални колебания могат да бъдат непълно отразени от част от статичните индекси, базирани единствено на стойности на гладно [261, 280].

Неинсулин-базираните индекси показват по-отчетлива дискриминативна способност в контекста на COVID-19. Повишените стойности на TyG индекса и на съотношението TG/HDL-C при лицата с активна инфекция, както и градиентът към по-ниски стойности в пост-COVID периода, подкрепят ролята на острия възпалително-метаболитен стрес за транзиторно изостряне на атерогенната ИП [155, 347]. Липсата на съществени разлики между преболедувалите лица с нововъзникнали ВХ нарушения и неболедувалите с MC

предполага, че част от тези промени са преходни и се припокриват с вече съществуващ метаболитен риск.

Индексът METS-IR демонстрира сходни стойности между пост-COVID групата и референтната група с МС, което насочва към по-голяма чувствителност на този показател към хроничния метаболитен товар, отколкото към остри инфекциозно-индуцирани промени. Това може да обясни и липсата на статистически значима ескалация на METS-IR в пост-COVID периода, въпреки наличието на нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна [43].

Подгруповият анализ в рамките на пост-COVID групата показва, че степента на ИР варира според типа нарушение във ВХ обмяна, като статистически значима стратификация се установява за НОМА-IR и TyG index. Това подкрепя концепцията за пост-COVID метаболитен фенотип с централна роля на ИР, но с вариабилна клинична изява и различна тежест между отделните подтипове.

Накрая, корелационните зависимости между индексите за ИР и маркери на възпаление, имунна активация и хипоксичен стрес (вкл. HIF-1 $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10 и IL-17A) подсилват мултифакторния характер на наблюдаваните промени и насочват, че ИР след преболедуване не е изолирано метаболитно нарушение, а резултат от взаимодействие между персистираща имунна активност, хипоксично-индуциран клетъчен стрес и подлежащ метаболитен терен.

В съвкупност, резултатите очертават патофизиологичен модел, при който ИР формира доминиращия метаболитен фон, а  $\beta$ -клетъчната дисфункция/неуспешната адаптация определя прехода към клинично значима дисгликемия.

## **6. Оценка ролята на адипоцитокени и други хормонално активни молекули в генезата на COVID-19–асоцираната дисгликемия.**

### **6.1. Хормонално активни молекули**

Липсата на статистически значима разлика в серумните нива на GLP-1 между пациентите с активна SARS-CoV-2 инфекция и неболедувалите лица с МС, включително след корекция за възраст и пол, показва, че инкретиновата секреция не е съществено потисната в острата фаза на инфекцията. Наблюдаваната тенденция към по-високи стойности при активен COVID-19 може да отразява компенсаторен инкретинов отговор в условията на остър възпалителен и метаболитен стрес, без данни за първична

инкретинова недостатъчност. Силните положителни корелации с проинсулин и лептин, както и отрицателната връзка със съотношението адипонектин/лептин в двете групи, насочват към вторична модулация на GLP-1, паралелна на  $\beta$ -клетъчния стрес и адипоцитната дисфункция. Допълнителните асоциации с глюкоза, инсулин и индексите за ИР при лицата с МС подкрепят разбирането, че GLP-1 по-скоро отразява степента на метаболитен дисбаланс, отколкото представлява централен патогенетичен механизъм на COVID-19-асоциираната дисгликемия [45, 49, 327].

За разлика от това, GP-73 демонстрира ясно изразен фазово-зависим профил, характеризиращ се със значимо понижаване по време на активната SARS-CoV-2 инфекция и възстановяване до стойности, сходни с тези при неболедувалите лица с МС в пост-COVID периода. Този модел, потвърден и след мултивариантна корекция, насочва към динамична регулация на протеина в контекста на острия системен възпалителен отговор. Потискането му в острия фаза вероятно отразява преходна промяна в чернодробната метаболитна функция, докато липсата на разлика между преболедувалите пациенти с нововъзникнали ВХ нарушения и лицата с МС подкрепя по-скоро ролята на GP-73 като маркер на хроничен хепатометаболитен стрес, отколкото на остри инфекциозно-индуцирани промени. Установените асоциации с цитокини, HIF-1 $\alpha$  и глюкагон допълнително подчертават взаимодействието му с имуновъзпалителните и метаболитните пътища [84, 170, 417].

В съвкупност, данните сочат, че както инкретиновата ос, така и GP-73 участват по-скоро като адаптивни или вторични елементи в по-широката мрежа на метаболитна и възпалителна регулация при COVID-19, отколкото като самостоятелни водещи механизми на постинфекциозната дисгликемия.

## **6.2. Адипоцитокени и адипокинов баланс**

Постепенното нарастване на серумните нива на лептин от активната SARS-CoV-2 инфекция към пост-COVID периода и МС очертава фазово-зависима динамика на адипоцитната дисфункция и развитие на лептинова резистентност. Относително по-ниските стойности при активна инфекция са съвместими с преходна дисрегулация на лептиновата секреция или сигнализация в условията на остър възпалителен стрес, докато повишените нива след преболедуване и при МС са типични за хроничен метаболитен и имуновъзпалителен стрес [115, 333, 408]. Установените корелации с проинсулин, GLP-1 и индексите за ИР подчертават ролята на лептина като свързващо

звено между адипоцитната дисфункция,  $\beta$ -клетъчния стрес и нарушената глюкозна хомеостаза.

Липсата на значими междугрупови различия в абсолютните нива на адипонектин показва, че в изследваната популация SARS-CoV-2 инфекцията не е асоциирана с изразен адипонектинов дефицит, за разлика от описаното при тежко и критично болни пациенти [333]. Съхранените стойности както в острата, така и в пост-COVID фазата предполагат, че при леко до умерено протичане на инфекцията противовъзпалителният адипонектинов отговор остава относително запазен. Наблюдаваните асоциации с показатели за  $\beta$ -клетъчна функция и с HIF-1 $\alpha$  подкрепят плейотропната роля на адипонектина в регулацията на метаболитната адаптация и клетъчния отговор при хроничен имунометаболитен стрес [383, 435].

Значимо по-високото съотношение Adiponectin/Leptin при активна и пост-COVID инфекция в сравнение с метаболитния синдром подчертава чувствителността му като интегративен маркер за адипоцитна функция и инсулинова чувствителност. Повишените стойности при COVID-асоциираните състояния, при отсъствие на съществена редукция в нивата на адипонектин, отразяват предимно динамични промени в лептиновата секреция и баланса между про- и противовъзпалителните адипокини [103, 333]. Силните корелации с проинсулин, GLP-1 и индексите за ИР показват, че нарушението на адипокиновия баланс е тясно свързано с  $\beta$ -клетъчната дисфункция и компенсаторните метаболитни механизми както при SARS-CoV-2 инфекция, така и при класическия МС.

## **7. Рискови фактори за ЗД в контекста на COVID-19**

ROC анализът очертава мултифакторен предиктивен модел, асоцииран с повишена уязвимост към развитие на ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция, включващ имунологични, метаболитни и хормонални показатели. Маркерите с отлична дискриминационна способност – HCF-D, IL-7 и глюкоза на гладно – подчертават съчетанието между нарушена глюкозна хомеостаза и имунна дисрегулация като ключов рисков профил.

Добрата предиктивна стойност на IFN- $\gamma$ , 8-epi-PGF2 $\alpha$  и глюкагон насочва към участие на Т-клетъчната активация, оксидативния стрес и контрарегулаторната хормонална ос в процеса на метаболитна декомпенсация. Паралелно с това, метаболитните индекси (НОМА-IR, С-пептид, съотношението Adiponectin/Leptin) потвърждават централната

роля на ИР и  $\beta$ -клетъчната адаптация в прогресията към клинично изявена дисгликемия. Обратната зависимост при НОМА-В, отразена в  $AUC < 0.50$ , показва, че по-ниските стойности на  $\beta$ -клетъчната функция са асоциирани с по-висок риск, което е в съответствие с изчерпване на компенсаторния секреторен резерв.

В съвкупност, резултатите сочат, че рискът от развитие на ЗД след SARS-CoV-2 инфекция се определя от взаимодействието между персистираща имунна активация, оксидативен стрес, адипоцитна дисфункция и нарушена  $\beta$ -клетъчна адаптация, а не от изолирано метаболитно нарушение.

#### **8. Качество на живот при преболедували SARS-CoV-2 с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна**

Установеното влошаване на качеството на живот при преболедувалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна отразява комплексното въздействие на SARS-CoV-2 инфекцията върху физическото, психоемоционалното и социалното функциониране.

Персистиращата умора, намалената работоспособност и повишената честота на депресивни симптоми са в съответствие с клиничния спектър на пост-COVID синдрома и предполагат продължаващ имунометаболитен и възпалителен стрес след отзвучаване на острата инфекция.

Съпоставянето на субективните оплаквания с обективно установените метаболитни нарушения подкрепя разбирането, че пониженото качество на живот не се дължи единствено на остатъчни инфекциозни симптоми, а е свързано и с настъпилите промени в глюкозната хомеостаза, инсулиновата чувствителност и адипоцитната функция.

Тези данни подчертават, че пост-COVID метаболитните нарушения имат не само биохимично, но и функционално и социално значение.

В този контекст резултатите аргументират необходимостта от цялостен, мултидисциплинарен подход, включващ ендокринологично проследяване, психоемоционална подкрепа и прилагане на индивидуализирани стратегии за метаболитно управление при пациенти с пост-COVID дисгликемия.

## ИЗВОДИ

1. Иммунната дисрегулация при COVID-19 се характеризира с комплексни нарушения в имунорегулаторната ос, включващи едновременно провъзпалителни и регулаторни цитокини, което надхвърля класическата концепция за „цитокинова буря“.
2. Установеният дисбаланс в оста IL-7/IL-10, характеризиращ се с повишени нива на IL-7 и несъответстващ регулаторен отговор на IL-10, насочва към персистираща нарушена имунна хомеостаза, поддържаща хроничен възпалително-метаболически фон в острия и пост-COVID фазата.
3. Провъзпалителните цитокини TNF- $\alpha$  и IL-17A се асоциират с ИП, докато потискането на IFN- $\gamma$  след преболедуване насочва към пост-COVID Th1-дисфункция и променен имуноен баланс.
4. Установените връзки между цитокиновия профил, глюкозната хомеостаза,  $\beta$ -клетъчната функция и ИП подкрепят имуномедиран механизъм на метаболическата дисрегулация и концепцията за COVID-19 като имунометаболически тригер за панкреасно засягане.
5. При преболедувалите лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна се очертава хетерогенен имуновъзпалителен профил, вариращ според клиничния метаболически фенотип, което предполага наличие на различни, но взаимосвързани патогенетични пътища.
6. Клетъчно-медирианият имуноен отговор има съществен принос за панкреасното засягане, като CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-свързаните механизми участват диференцирано в регулаторните процеси и в развитието на  $\alpha$ - и  $\beta$ -клетъчната дисфункция.
7. Оксидативният стрес и вирус-индуцираната клетъчна хипоксия, медирирани чрез NIF-1 $\alpha$ , се очертават като ключови механизми, свързващи възпалението, метаболическия стрес и  $\beta$ -клетъчната дисфункция в острия и пост-COVID фазата.
8. ИП представлява доминиращ метаболически дефект при COVID-19 и може да персистира след преболедуване, като комбинираното използване на различни сурогатни индекси осигурява по-пълна оценка на метаболическите нарушения.
9. Адипоцитната дисфункция и нарушенията в инкретиновата и чернодробно-метаболическата регулация допринасят за поддържането на продължителен имунометаболически континуум след SARS-CoV-2 инфекцията.
10. ROC анализът идентифицира комплексен профил от клинични, метаболически и имунологични показатели, асоциирани с повишен риск от развитие на ЗД в контекста

на SARS-CoV-2 инфекция – както по време на активното заболяване, така и в пост-COVID периода, което има значение за ранна рискова стратификация в клиничната практика.

## **ПРИНОСИ**

### **I. Научно-теоретични приноси**

1. Проведено е комплексно клинично и лабораторно изследване в българска кохорта, което разширява познанията за връзката между SARS-CoV-2 инфекцията, панкреасната  $\beta$ -клетъчна функция и нарушенията в глюкозната хомеостаза в острата и пост-COVID фазата.
2. Анализирани са динамичните промени в имунната хомеостаза по време и след коронавирусна инфекция и тяхното влияние върху  $\beta$ -клетъчната функция и други ключови глюкорегулаторни механизми, което подкрепя концепцията за COVID-19 като имунометаболитно заболяване.
3. Доказана е асоциация между SARS-CoV-2 инфекцията и възникването на широк спектър от нарушения във ВХ обмяна, включително нововъзникнал ЗД тип 1 (вкл. LADA), ЗД тип 2 и предиабетни състояния (НГГ, НГТ).
4. Идентифицирани са фенотип-специфични имунопатогенетични механизми, участващи в  $\beta$ -клетъчното увреждане при различните форми на нововъзникнал ЗД след COVID-19, с водеща роля на клетъчно-медиирания имунен отговор.
5. Установена е централната роля на ИП като доминиращ метаболитен дефект при COVID-19, с тенденция към персистиране в пост-COVID периода, независимо от предшестващ диабетен статус.
6. Демонстрирано е участието на оксидативен стрес, вирус-индуцирана клетъчна хипоксия, адипоцитна и инкретинова дисфункция като взаимосвързани механизми, формиращи устойчив имунометаболитен континуум след преболедуване от SARS-CoV-2 инфекция.

### **II. Научно-приложни приноси**

1. Определена е честотата на нововъзникнал ЗД при пациенти, хоспитализирани за лечение на COVID-19, и са анализирани различията според фазата на инфекцията и клиничния контекст.

2. Валидирано е комбинираното използване на инсулин- и неинсулин-базирани сурогатни индекси за оценка на  $\beta$ -клетъчната функция и ИР при COVID-19 и в пост-COVID периода.
3. Идентифицирани са клинични, биохимични и имунологични показатели, асоциирани с повишен риск от развитие на ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция.
4. За първи път в България е оценено качеството на живот при лица с нововъзникнали нарушения във ВХ обмяна след SARS-CoV-2 инфекция, като е установено значимо засягане на физическия и психоемоционалния домейн.

### **ОГРАНИЧЕНИЯ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

Настоящото изследване има няколко ограничения, които следва да бъдат отчетени при интерпретацията на резултатите.

Липсата на контролна група от напълно здрави лица наложи използването на референтна група с МС, което ограничава възможността за директно сравнение с метаболитно и имунологично интактна популация.

При тази COVID-негативна група не може напълно да се изключи възможността за прекарана асимптомна SARS-CoV-2 инфекция поради липса на серологични данни при част от лицата.

Невъзможността за определяне на ИТМ при пациентите с активна коронавирусна инфекция ограничи включването му като ковариат в част от статистическите анализи.

Допълнително, сравнително малкият брой лица в някои подгрупи и еднократното определяне на част от имунологичните и метаболитните маркери ограничават статистическата мощ и възможността за категорични изводи относно причинно-следствените връзки.

Необходими са бъдещи лонгитудинални, проспективни проучвания с по-голям обем на извадката и включване на здрави контролни групи за по-прецизно изясняване на имунометаболитните механизми, свързани с развитието на ЗД в контекста на SARS-CoV-2 инфекция.

## **СПИСЪК С ПУБЛИКАЦИИТЕ ПО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

1. Tsvetkova V, Todorova M, Todorova K, Atanasova M, Gencheva I, Atherogenic insulin resistance indices and immune disturbances in COVID–19. *Journal of Biomedical and Clinical Research* 2025 (18): 293-306. ISSN 1313-6917, <https://doi.org/10.3897/jbcr.e173237>
2. Tsvetkova VT, Todorova MS, Todorova KN. Link Between Immune Dysregulation in COVID-19 and Beta-Cell Dysfunction. *J Endocrinol Metab.* 2025;15(4):161-180. ISSN 1923-2861, doi:10.14740/jem1547
3. Tsvetkova V., Todorova K., Hyperglycemia and COVID-19 – two sides of one coin, *Archiv euromedica* 2023;13(4): 1–12; ISSN 2193-3863, DOI 10.35630/2023/13/4.801
4. Цветкова В., Тодорова К., Биомолекулярни механизми на панкреасната бета-клетъчна увреда при COVID-19, сп. *Наука Ендокринология* 2022,(2):45–56; ISSN 1313-0897
5. Цветкова В., Тодорова К., Метаболитен синдром и COVID-19, сп. *МедИнфо* 2022, (5):32–39; ISSN 1314-0345

## **УЧАСТИЯ НА КОНГРЕСИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

1. Цветкова В. Промени в бета клетъчна функция при COVID-19. Плевенски ендокринологични дни – 13–15.05.2022г., Плевен.
2. Цветкова В., Тодорова К., Е-постер на тема: „Промени в бета-клетъчната функция при КОВИД-19“ в рамките на Национален конгрес по Ендокринология, организиран от Българско дружество по ендокринология (БДЕ) – 12–14.10.2023г., Пловдив.
3. Цветкова В., Тодорова К., Тодорова М. „Може ли COVID-19 да причини Захарен диабет?“ – научен доклад в рамките на трета научна сесия на XV Национален интердисциплинарен конгрес на Българската диабетна асоциация с международно участие 2024г., 06.06. – 09.06.2024г., Пампорово.
4. Цветкова В. Инсулинова резистентност и COVID-19. Плевенски ендокринологични дни - 14-15.06.2024г., Плевен.