

*На правах рукописи*



**Щелкановцева Екатерина Сергеевна**

**Прогнозирование течения и исходов новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у  
госпитализированных пациентов: роль определения активности хитотриозидазы**

3.1.18. Внутренние болезни

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,  
профессор

**Фомин Виктор Викторович**

**Официальные оппоненты:**

**Явелов Игорь Семенович** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел фундаментальных и клинических проблем тромбоза при неинфекционных заболеваниях, руководитель отдела

**Певзнер Дмитрий Вольфович** – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель отдела неотложной кардиологии

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «25» февраля 2025 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.20 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, улица Трубецкая д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ года

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



**Дроздов Владимир Николаевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В 2020 году Всемирная Организация Здравоохранения объявила о пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV2, что впоследствии стало глобальной проблемой для всего человечества.

Заболевание характеризуется высокой контагиозностью (Харченко et al. 2020), ускоренной вирусной репродукцией (Riou et al. 2019) и потенциально скрытой передачей вируса в течение предсимптомного инкубационного периода (Bai et al. 2020), а также имеет непредсказуемое клиническое течение, поэтому крайне необходим поиск прогностических биомаркеров, что позволит в том числе рациональнее управлять ресурсами медицинских учреждений и работой медицинского персонала. Раннее выявление пациентов, находящихся в группе риска по развитию тяжелого течения заболевания, будет способствовать оптимизации их лечения. Появляется всё больше исследований по прогностической значимости отдельных маркеров, разрабатываются прогностические модели у пациентов с COVID-19, составляются шкалы для прогнозирования рисков клинического ухудшения заболевания. Однако выделить какой-либо показатель, который может послужить независимым ранним предиктором неблагоприятного исхода у пациентов с коронавирусной инфекцией, даже по истечении нескольких лет с момента начала пандемии затруднительно.

Разносторонний взгляд на коронавирусную инфекцию позволил нам подойти к заболеванию с ранее не изученной стороны.

Патогенез COVID-19 сложен и неоднозначен. Известно, что синдром активации макрофагов реализуется TLR4/MyD88-зависимым путем и выделением различных белков, принимающих участие в иммунном ответе (Eijk et al. 2021, Malaguarnera et al. 2005). Одним из ферментов, высвобождаемым активированными макрофагами и нейтрофилами, является хитотриозидаза (ХТЗ). К настоящему времени роль активности данного фермента рассматривалась в различных областях медицины: в пульмонологии (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь лёгких, саркоидоз, идиопатический лёгочный фиброз), в неврологии (в основном при нейродегенеративных заболеваниях), онкологии, кардиологии, эндокринологии и даже гинекологии (синдром поликистозных яичников). Фермент, как биохимический маркер, признанный мировым врачебным сообществом, активно используется у пациентов с болезнью Гоше для оценки эффективности проводимого лечения (Hollak et al. 1994).

Что касается коронавирусной инфекции, по данным одноцентрового наблюдательного исследования, проведенного нашими соотечественниками, было выявлено, что у пациентов с COVID-19 уровень ХТЗ оказался выше, чем в контрольной группе (Skvortsov et al. 2019). Несмотря на то, нами не было найдено каких-либо дополнительных исследований, связанных с

коронавирусной инфекцией и ХТЗ в качестве прогностического биомаркера, изучение ее роли в качестве независимого предиктора течения COVID-19 весьма перспективно и актуально, так как заболевание продолжает создавать нагрузку на мировое здравоохранение по сей день, несмотря на то, что статус пандемии был снят в 2023 году.

### **Степень разработанности темы исследования**

В метаанализе (Malik et al. 2021), состоящем из 32 исследований с 10491 участниками, описывались различные факторы, которые могут быть полезны для прогнозирования тяжелого течения коронавирусной инфекции. Согласно полученным данным в качестве ранних биомаркеров тяжелого течения превалировали такие показатели, как снижение лимфоцитов и тромбоцитов, повышение С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, прокальцитонина и Д-димера. На тот момент времени, как правило, исследования носили ретроспективный характер, а отсутствие единых критериев тяжести заболевания делало их еще более несовершенными. По мере формирования более четкого представления о болезни и её патогенезе, было выяснено, что вирус идентифицируется во многих тканях, включая эндотелиальные, печеночные, почечные, легочные и нейрональные клетки (Robba et al. 2020), что не исключает прямую инвазию вируса и развитие системных эффектов. Дальнейшее направление развития науки проходило в сторону изучения показателей системной воспалительной реакции, клеточного и гуморального иммунитета.

Изучение ХТЗ у пациентов с COVID-19 практически не представлено среди имеющихся научных данных. По данным протеомного анализа (Kimura et al. 2021), проведенного у пациентов с COVID-19, было продемонстрировано, что хитиназо-3-подобный белок-1, принадлежащий к семейству 18-гликозилгидролаз, которое состоит из хитиназ и хитиназоподобных белков, может служить высокочувствительным прогностическим маркером. Данное сродство ферментов также может быть подтверждением возможности использования ХТЗ как прогностического биомаркера. Прогностическое значение раннего определения активности хитотриозидазы у госпитализированных пациентов с COVID-19 не изучалось в проспективном исследовании.

Таким образом, из-за отсутствия единой диагностической модели прогнозирования течения заболевания у госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией, наше исследование, возможно, внесет вклад для построения системного подхода к грамотному распределению ресурсов и успешному лечению пациентов.

### **Цель и задачи исследования**

Повысить эффективность прогнозирования неблагоприятного течения и исходов COVID-19 у госпитализированных пациентов с помощью определения активности хитотриозидазы.

1. Определить активность хитотриозидазы в плазме крови у госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19).
2. Оценить влияние исходной активности хитотриозидазы на выживаемость пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19).
3. Оценить влияние исходной активности хитотриозидазы на потребность в искусственной вентиляции легких и неинвазивной искусственной вентиляции легких (ИВЛ/НИВЛ) у пациентов с COVID-19.
4. Сравнить прогностическую значимость повышения активности хитотриозидазы выше порогового значения с известными предикторами неблагоприятного прогноза COVID-19 (С-реактивный белок, количество лимфоцитов и другие).
5. Оценить взаимосвязь исходной активности хитотриозидазы с динамикой данных компьютерной томографии: объемом поражения легочной ткани, плотностью печени и селезенки у госпитализированных пациентов с COVID-19.

### **Научная новизна**

Впервые в проспективном исследовании оценивалась активность уровня хитотриозидазы у госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией в качестве раннего прогностического биомаркера.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Поиск прогностического маркера тяжелого течения у пациентов с коронавирусной инфекцией имеет высокую практическую значимость для работы медицинских учреждений и врачебного персонала. Использование ХТЗ потенциально имеет высокую практическую значимость, исходя из результатов диссертационного исследования, и может быть внедрено в рутинную лечебную работу.

### **Методология и методы исследования**

Проведено одноцентровое когортное проспективное наблюдательное исследование. В ходе выполнения работы использованы теоретический анализ литературных данных, сбор информации, анализ и сравнение с последующей статистической обработкой материала и сопоставлением с результатами опубликованных исследований по схожей проблематике. Полученные результаты проанализированы, систематизированы и изложены в главах диссертационного исследования. На основании итоговых данных сформулированы выводы и предложены практические рекомендации.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. У госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19) отмечается повышение активности хитотриозидазы в плазме крови.

2. Увеличение активности хитотриозидазы выше 150 нмоль/мл/ч может служить ранним предиктором неблагоприятного исхода (смерти от любых причин) у пациентов, госпитализированных по поводу новой коронавирусной инфекции (COVID-19).
3. Увеличение активности хитотриозидазы выше 150 нмоль/мл/ч повышает вероятность необходимости в респираторной поддержке (ИВЛ/НИВЛ) у пациентов, госпитализированных по поводу новой коронавирусной инфекции (COVID-19).
4. Повышение активности хитотриозидазы превосходит С-реактивный белок в предиктивной способности потребности в ИВЛ/НИВЛ у госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19).
5. Исходная активность хитотриозидазы менее 100 нмоль/мл/ч может сопровождаться прогрессированием поражения легочной ткани, но не влиять на динамику плотности печени и селезенки по данным КТ.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

В рамках диссертационной работы автором обследованы 347 пациентов с диагнозом новая коронавирусная инфекция, которые впоследствии были разделены на группы: выжившие и умершие, а также переведенные на ИВЛ/НИВЛ и непереведенные на ИВЛ/НИВЛ. Исследовательские задачи, поставленные в рамках диссертационной работы, были успешно выполнены в полном объеме, после этого были сформулированы выводы и практические рекомендации. Результаты представлены в виде таблиц и рисунков. Для статистической обработки данных использовался язык программирования Python v.3.8.12 (Anaconda distribution) и его модули для анализа, программы Statistica и SPSS. База данных была сформирована в программе Microsoft Excel 2019.

Первичная документация (акты внедрения в лечебный и учебный процессы, акт проверки первичной документации) проверена (протокол № 071/Р от 12 марта 2024 года) и допущена к дальнейшему использованию. Получено одобрение Локального Этического комитета (протокол № 22–21 от 09.12.2021 года).

17 мая 2022 года на постерной сессии Американского конгресса ATS (American Thoracic Society) был представлен тезис с оценкой влияния ХТЗ на выживаемость пациентов в рамках устного доклада.

Апробация состоялась на заседании кафедры факультетской терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол №12 от 06.09.2024 года.

### **Личный вклад автора**

Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования – от постановки задач, их теоретической и клинической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах и их внедрения в практику.

Автор самостоятельно провел поиск и анализ данных литературы по теме диссертационной работы. Анализ медицинской документации, телефонное интервью с выжившими участниками исследования, создание компьютерной базы, обобщение результатов, подготовка публикаций по теме диссертации, а также ее написание выполнены диссертантом лично

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация по поставленной цели, задачам и полученным результатам соответствует паспорту научной специальности 3.1.18. Внутренние болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3 и 5 паспорта специальности.

### **Публикации**

По результатам исследования автором опубликовано 4 работы, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, 2 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных (Web of Science, Scopus, PubMed), 1 публикация в сборниках материалов зарубежных научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация представляет собой рукопись на русском языке объемом 102 страницы машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, посвящённой результатам собственного исследования, и заключения, включающего обсуждение результатов, выводы, практические рекомендации. Список цитируемой литературы содержит 112 источников, из которых 24 отечественных и 88 зарубежных. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 11 рисунками, а также в ней представлены 2 клинических случая.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Вид проводимого исследования – открытое проспективное наблюдательное когортное клиническое исследование.

Критерии включения в исследование: госпитализация по поводу новой коронавирусной инфекции, диагностированной согласно временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Министерства здравоохранения РФ, версия 9 (29.10.2020). Для поставки диагноза COVID-19,

согласно действующим на тот момент временным клиническим рекомендациям, использовалась не только этиологическая лабораторная диагностика, но и методы лучевой диагностики патологии ОГК пациентов с предполагаемой/установленной COVID-19 пневмонией.

Критерии невключения в исследования: возраст менее 18 лет, наличие сопутствующего заболевания с ожидаемой продолжительностью жизни менее 6 месяцев, продолжительность заболевания к моменту госпитализации больше 21 дня.

В исследование было включено 347 пациентов с верифицированным диагнозом коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, случайно отобранные из пациентов, госпитализировавшихся в УКБ №4 с 1 ноября 2020 года по 1 февраля 2021. Медиана возраста пациентов составила 66 [56; 75] лет, среди которых 165 (47,6%) мужчин и 182 (52,4%) женщин. Полное описание исходных характеристик госпитализированных пациентов представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Общая характеристика всех пациентов, включенных в исследование

Параметр	Все пациенты (N – 347)
Мужской пол	165 (47,6%)
Возраст, года	66 [56; 75]
День болезни на дату поступления, дни	7 [5; 10]
Длительность госпитализации, дни	13 [10; 16,5]
Анализ на SARS-CoV2, обнаружено	266 (76,7%)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,5 [25,6; 32,3]
StO <sub>2</sub> , %	95 [93; 96]
NEWS, баллы	4 [2; 5]

Данные выражены в процентах или медиане [Q1; Q3]

Среди выявленных сопутствующих заболеваний чаще всего встречались артериальная гипертензия и сахарный диабет, 224 (65%) и 60 (17%), соответственно. Основные сопутствующие заболевания, имеющиеся у пациентов с COVID-19 на момент госпитализации, представлены на рисунке 1.

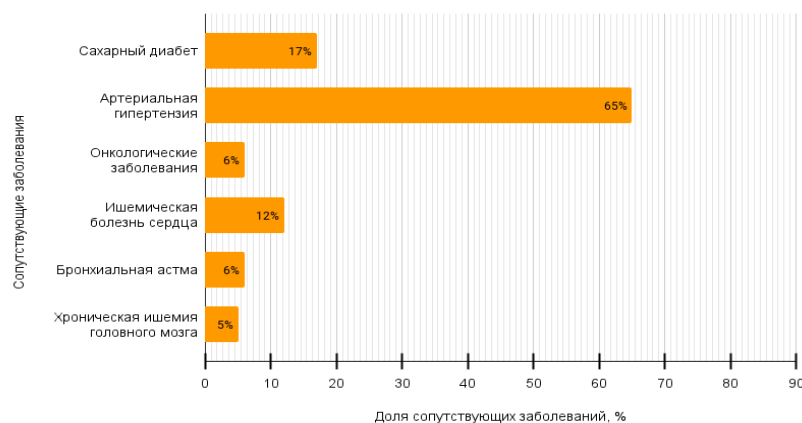


Рисунок 1 - Основные сопутствующие заболевания



## Методы исследования

Всем больным проводились стандартные методы обследования: оценка жалоб, анамнеза заболевания и истории жизни, включая сопутствующие заболевания, физикальное обследование больных - оценка общего состояния пациента в том числе по шкале NEWS, термометрия, состояния кожных покровов, легких, сердца, органов брюшной полости, почек, измерение частоты сердечных сокращений (уд/мин), частоты дыхательных движений (дд/мин), сатурации (%), АД (мм рт.ст.), роста (см) и взвешивание пациента с последующим расчетом индекса массы тела ИМТ. Для оценки ИМТ использовалась формула Кетле:  $ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост (м)}^2$ ).

Помимо этого, проводился стандартный лабораторно-инструментальный комплекс обследований, необходимый для госпитализации в стационар, который включал в себя следующее: общий анализ крови (количество лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, отношение абсолютного числа нейтрофилов к лимфоцитам, гемоглобин, количество тромбоцитов, скорость оседания эритроцитов, С-реактивный белок, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, креатинин, общий белок, Д-димер, активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновый индекс, международное нормализованное отношение).

Всем больным была проведена КТ органов грудной клетки в день поступления и как минимум еще один раз за период госпитализации на аппарате Canon «Aquilion One Genesis» 640.

### Определение активности хитотриозидазы

У всех пациентов, включенных в исследование, исходно определяли активность ХТЗ плазмы крови. С этой целью капля венозной крови наносилась на стандартную карточку-фильтр (Greenvan-Biocard) и высушивалась при комнатной температуре. После проводилась транспортировка анализов в лабораторию ФНБУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», где активность ХТЗ определялась флуориметрическим методом с использованием синтетического субстрата 4-метилумбеллиферил-три-N-ацетил-β-хитотриозид. Образцы высушенных пятен хранились в обычной камере холодильника при +4°C до отправки. Срок хранения до отправки материалов не превышал 7-ми дней.

### Проводимая лекарственная терапия COVID-19 на амбулаторном этапе

Основная лекарственная терапия COVID-19, которую принимали включенные в исследование пациенты до поступления, представлена в таблице 2. К основным принимаемым антибактериальным препаратам относились: антибиотики пенициллинового ряда, макролиды, фторхинолоны и цефалоспорины). Нестероидные противовоспалительные средства были представлены ацетилсалициловой кислотой, ацеклофенаком, ибупрофеном. Антикоагулянтная терапия в основном включала в себя пероральные антикоагулянты (ривароксабан, дабигатран, апиксабан) и лишь 4 человека получали гепарин натрия и эноксапарин натрия. Из

глюкокортикостероидов 18 человек получали дексаметазон, 1 человек преднизолон и 1 человек метилпреднизолон.

Таблица 2 – Основная лекарственная терапия COVID-19 у госпитализированных пациентов на амбулаторном этапе

Принимаемые препараты на амбулаторном этапе	Количество человек	Доля от всей группы (%)
Фавипиравир	123	35,5
Имидазолилэтанамида пентандиовой кислоты	8	2,3
Осельтамивир	3	0,9
Риамилловир	12	3,5
Умифеновир	21	6,1
Антибактериальная терапия	170	49
Нестероидные противовоспалительные средства	10	2,8
Парацетамол	79	35,5
Антикоагулянты	74	22,8
Гидроксихлорохин	13	3,7
Глюкокортикостероиды	20	5,8
Колхицин	2	0,6

#### Методы статистического анализа

Для статистической обработки данных мы использовали язык программирования Python v.3.8.12 (Anaconda distribution) и его модули для анализа, в частности: Sklearn, Pandas, Nona, Numpy, Sweetviz, Seaborn для данных и Matplotlib и Plotly для визуализации. Также использовались программы Statistica и SPSS. База данных была сформирована в программе Microsoft Excel 2019.

### РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### Результаты оценки влияния исходной активности хитотриозидазы на выживаемость

Для оценки влияния исходной активности хитотриозидазы на выживаемость, пациенты были разделены на две группы: выжившие и умершие. Для того чтобы узнать о выживаемости пациентов после выписки из стационара, было проведено телефонное интервью на 90-й и 180-й дни от включения в исследование. 68 человек (19%) не ответили на телефонные звонки.

За период наблюдения умерло 36 человек (10,4%). 30 из них (83,3%) скончались в первые 30 дней наблюдения, остальные - не позже 90-го дня. Основные характеристики выживших и умерших пациентов представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Основные характеристики госпитализированных пациентов

Параметр	Выжившие (N=311)	Умершие (N=36)	p
Средний возраст, годы	65,0 [55,0; 74,0]	80,0 [68,8; 82,8]	0,001
Женский пол	172 (52,6 %)	12 (40,0 %)	0,258
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	28,7 [25,5; 32,3]	28,3 [26,6; 33,3]	0,335
День болезни на момент включения в исследование	7 [5; 10]	7 [5; 9]	0,169
NEWS, баллы	3,0 [2,0; 5,0]	6,0 [3,0; 8,0]	0,001
Стадия КТ 3-4	44 (13,4 %)	12 (40 %)	0,01
Лимфоциты, тыс/мкл	1,6 [1,1; 2,0]	1,1 [0,8; 1,3]	0,001
Протромбиновый индекс, %	113,0 [93,8; 131,4]	88,3 [66,0; 114,2]	0,001
Креатинин, мкмоль/мл	87,5 [77,8; 103,0]	106,6 [83,9; 133,8]	0,001
С-реактивный белок, мг/мл	44,1 [18,2; 86,1]	99,3 [28,3; 192,5]	0,001
Активность ХТЗ, нмоль/мл/ч	90,5 [40,2; 178,0]	180,0 [77,2; 393,2]	0,001
Потребность в НИВЛ/ИВЛ, %	15 (4,6 %)	22 (73,3 %)	0,001
Использование ГИБТ, %	118 (37,9 %)	21 (58,3 %)	0,082

Данные выражены в процентах или медиане [Q1; Q3]

Основными сопутствующими заболеваниями среди выживших и умерших пациентов представлены на рисунке 2.

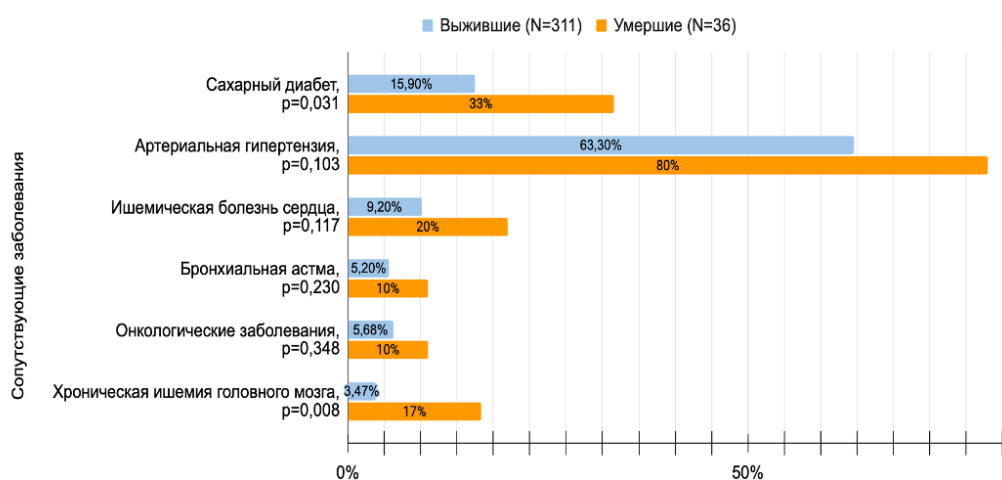


Рисунок 2 - Основные сопутствующие заболевания при разделении пациентов на выживших и умерших

21 (58,3%) человек среди умерших получали в стационаре биологическую терапию и 118 (37,9%) выживших пациентов ( $p=0,082$ ). При этом у 7-ми выживших пациентов была комбинированная биологическая терапия: тоцилизумаб+олокизумаб, олокизумаб+барицитиниб, олокизумаб+тофацитиниб, олокизумаб+циклоспорин. Препараты, относящиеся к получаемой биологической терапии за период госпитализации биологической терапии, представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Биологическая терапия у госпитализированных пациентов

Биологическая терапия	Количество человек	Доля от всей группы (%)
Артлегия (Олокизумаб)	88	23,98
Актемра (Тоцилизумаб)	42	11,44
Иларис (Канакинумаб)	9	2,45
Эфлейра (Нетакимаб)	4	1,09
Барицитиниб	1	0,27
Яквинус (Тофацитиниб)	1	0,27
Неорал (Циклоспорин)	1	0,27

Далее для анализа выживаемости нами была построена дополнительная диаграмма размаха или Box Plot (Рисунок 3), на которой умершие пациенты отражены синим цветом, а выжившие - оранжевым. Так как величина количественного показателя – активности хитотриозидазы, имела ненормальное распределение ( $p<0,001$  для проверки на нормальность тестом Шапиро-Уилка), мы использовали U-test Манна-Уитни,  $p<0,001$ , что указывает на статистически значимое различие по показателю ХТЗ в двух группах.

Очевидно, что среднее значение активности ХТЗ для смертельных случаев находится около 180 нмоль/мл/ч, а пациенты достигают первичной конечной точки при активности хитотриозидазы в пределах от 150 до 200 нмоль/мл/ч. Выздоровление же чаще наступает при активности ХТЗ около 120 нмоль/мл/ч.

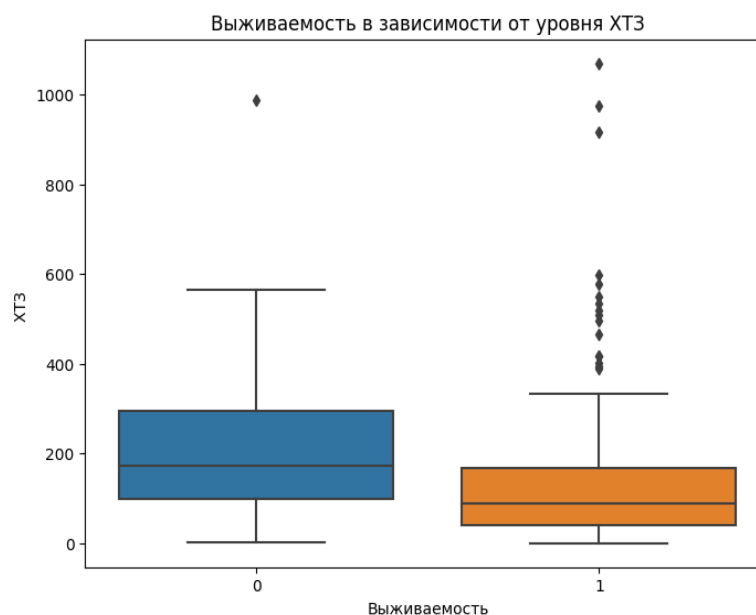


Рисунок 3 - Анализ выживаемости в зависимости от исходной активности хитотриозидазы

Для выявления связи между независимыми переменными (факторами риска неблагоприятного прогноза заболевания) и зависимой бинарной переменной - смертью от любых причин за период исследования, мы выполнили логистический регрессионный анализ. В то время как прогностическая ценность разработанной модели определялась путем построения ROC-кривой. При пороге отсечения ХТЗ в 150 нмоль/мл/ч чувствительность составила 55,9%, а специфичность 69,9% (Рисунок 4).

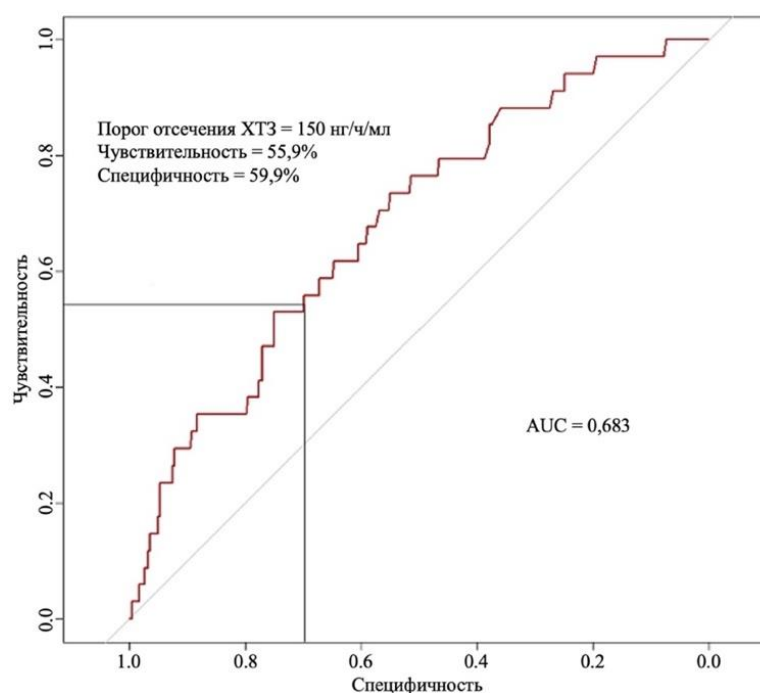


Рисунок 4 - ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности развития смертельного исхода у госпитализированных пациентов с COVID-19 от значения логистической функции P

Среди умерших 19 пациентов (18,8%) с активностью ХТЗ >150 нмоль/мл/ч и 17 (7,2%) пациентов с активностью ХТЗ <150 нмоль/мл/ч (ОШ=2,97; ДИ 1,44-6,12, p=0,003).

Отношение шансов равное 2,97 говорит о том, что шансы смертельного исхода у пациентов с ХТЗ >150 нмоль/мл/ч почти в 3 раза выше, чем для пациентов с исходной активностью ХТЗ менее 150 нмоль/мл/ч.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что исходная активность ХТЗ >150 нмоль/мл/ч влияет на выживаемость пациентов (Рисунок 5).

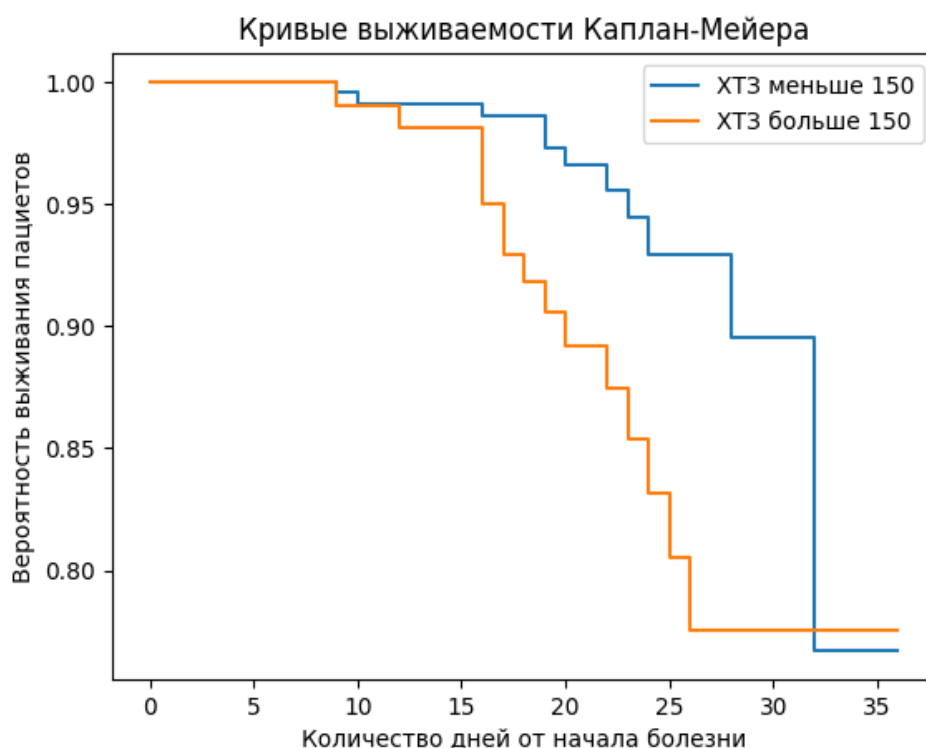


Рисунок 5 - Кривые Каплана-Мейера, показывающие выживаемость пациентов с коронавирусной инфекцией с активностью хитотриозидазы выше и ниже 150 нмоль/мл/ч

В рамках исследования мы построили модель логистической регрессии, предсказывающую выживаемость, на которой 0 - умершие, 1 – выжившие (Рисунок 6). Модель логистической регрессии, предсказывающая выживаемость пациентов на основе медицинских показателей, дала результат в 84,13% точности на заданной выборке, что является очень высоким уровнем предсказательной способности модели. Как мы видим, всего 10 неверных предсказанных значений (отмечены синими точками).

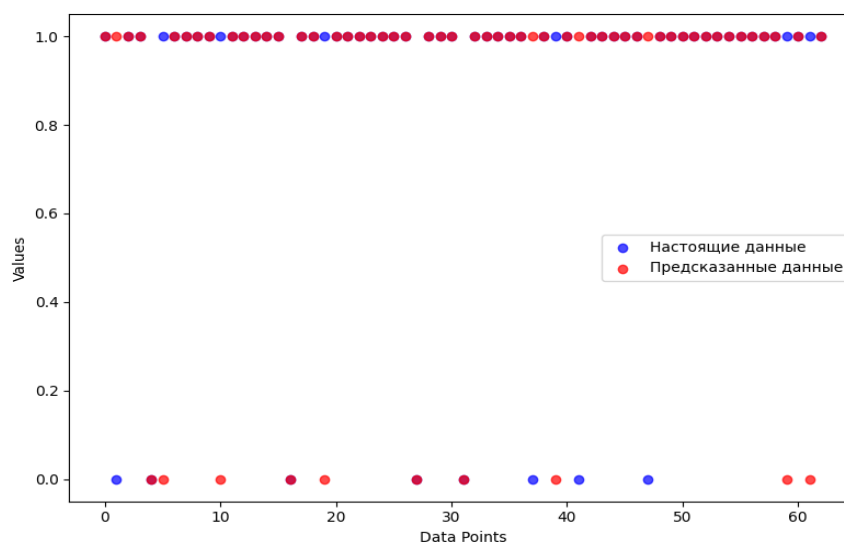


Рисунок 6 - Модель логистической регрессии

При анализе подгрупп по вторичной конечной точке - потребность в проведении искусственной вентиляции легких (ИВЛ) / неинвазивной искусственной вентиляции легких (НИВЛ) - СРАР-терапии (СРАР - Constant Positive Airway Pressure) ИВЛ/НИВЛ потребовалось 39 пациентам (11,2 %). Больные, которым проводилась респираторная поддержка, были старше и имели больше баллов по шкале NEWS, а также имели больше сопутствующих заболеваний. Полные результаты представлены в таблице 5 и на рисунке 7.

Таблица 5 - Сравнительные характеристики групп: переведенные/не переведенные на ИВЛ/НИВЛ

Параметр	НЕ ИВЛ/НИВЛ (N=308)	ИВЛ/НИВЛ (N=39)	p
Женский пол	164 (53,2%)	18 (46,2)	0,403
Возраст, годы	65,5 [55;74]	73 [64; 81]	0,008
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	28,5 [25,4; 32]	28,4 [26,6; 32,7]	0,5
День болезни на момент включения в исследование, дни	7 [5; 10]	6 [4,5; 8]	0,004
NEWS, баллы	3 [2; 5]	6 [3;7]	0,001
Стадия КТ 3-4	43 (13,96%)	14 (35,9%)	0,001

Данные выражены в процентах или медиане [Q1; Q3]

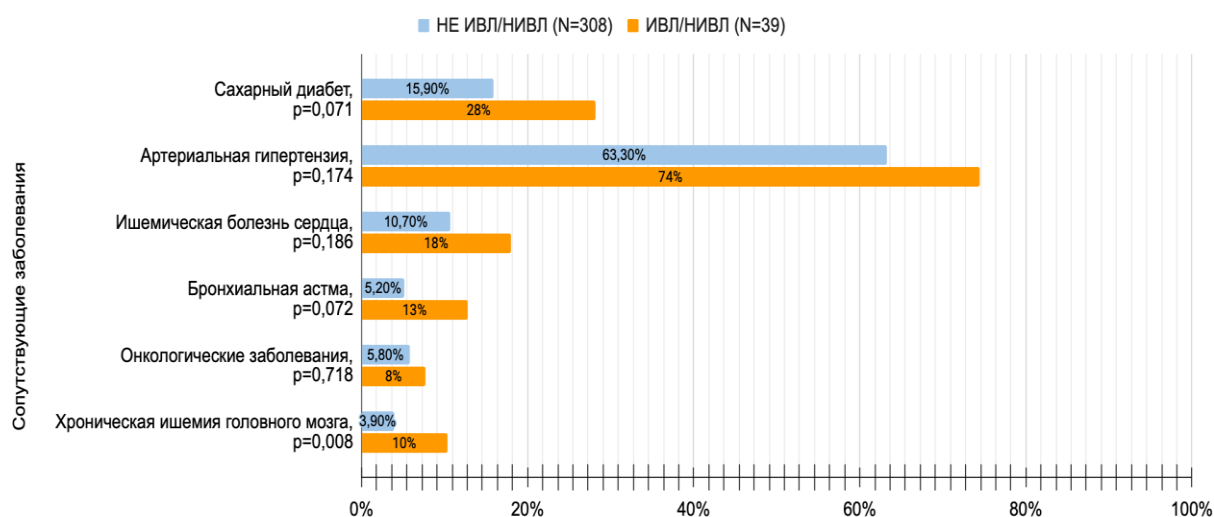


Рисунок 7 - Характеристика сопутствующих патологий для переведенных/не переведенных на ИВЛ/НИВЛ пациентов

Для сравнения распределений вероятностей для ХТЗ и потребности в респираторной поддержке построили диаграмма размаха или Box Plot (Рисунок 8).

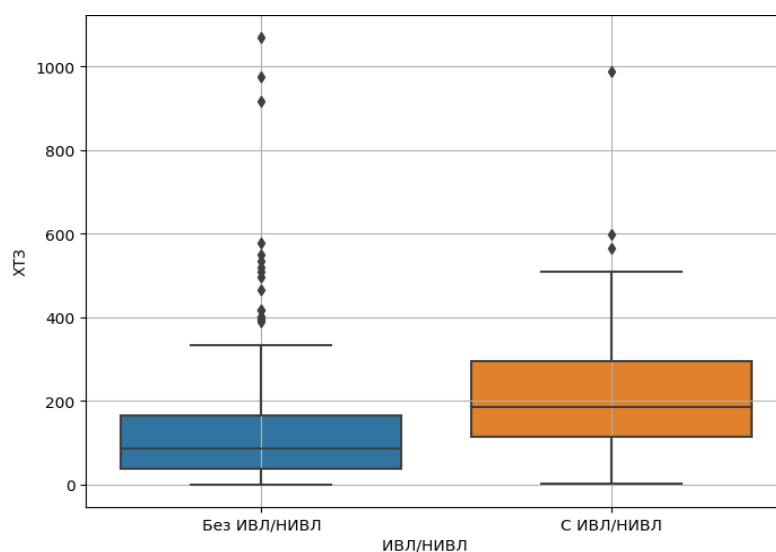


Рисунок 8 - Анализ потребности в ИВЛ/НИВЛ в зависимости от уровня хитотриозидазы

### Результаты оценки влияния исходной активности хитотриозидазы на потребность в ИВЛ/НИВЛ

Для сравнения количественного показателя - активности ХТЗ для двух групп пациентов по вторичной конечной точке - потребность в проведении ИВЛ/НИВЛ, мы использовали U-test Манна-Уитни, так как величина имеет ненормальное распределение.  $p < 0,001$ , что указывает на статистически значимое различие по показателю ХТЗ в двух группах (85,5 [38,0; 168,0]



нмоль/мл/ч для непереведенных на ИВЛ/НИВЛ и 185,0 [110,0; 296,0] нмоль/мл/ч для переведенных на ИВЛ/НИВЛ (Рисунок 9). Оптимальный порог отсечения согласно индексу Юдена - 100,5 нмоль/мл/ч (чувствительность 81,1%, специфичность 56,2%).

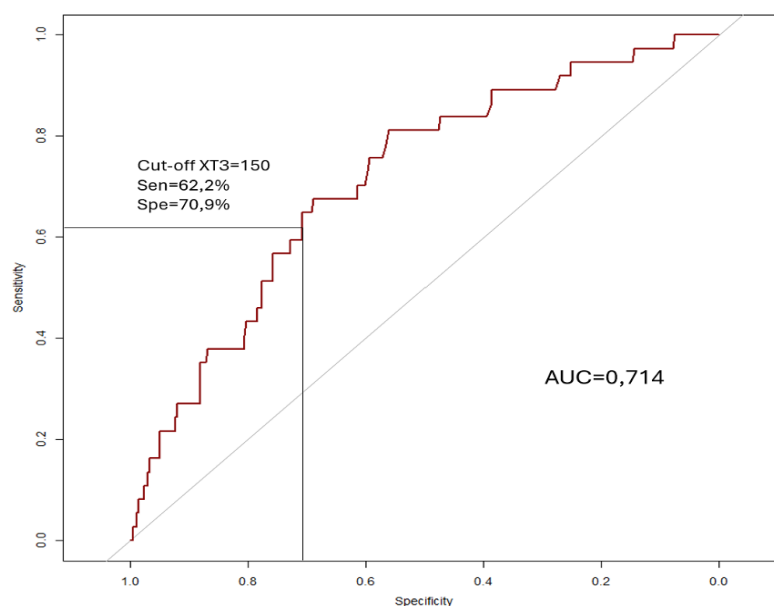


Рисунок 9 - ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности потребности в ИВЛ/НИВЛ у госпитализированных пациентов с COVID-19 от значения логистической функции P

Для количественной оценки сравнения частоты перехода на ИВЛ/НИВЛ у пациентов с  $XT3 > 150$  нмоль/мл/ч и пациентов с  $XT3 < 150$  нмоль/мл/ч использовался статистический показатель отношения шансов (ОШ). Также для полученных результатов был построен 95% доверительный интервал и рассчитывался p-value при помощи теста Хи-квадрат. Уровень статистической значимости был принят за 5%.

Среди переведенных на ИВЛ/НИВЛ оказались 23 пациента (20,54%) с активностью  $XT3 > 150$  нмоль/мл/ч и 16 (6,8%) пациентов с активностью  $XT3 < 150$  нмоль/мл/ч (ОШ=4,01; ДИ 1,97-8,14,  $p < 0,01$ ).

Отношение шансов равное 4,01 говорит о том, что шансы перехода на ИВЛ/НИВЛ у пациентов с  $XT3 > 150$  нмоль/мл/ч в 4 раза выше, чем для пациентов с исходной активностью  $XT3$  менее 150 нмоль/мл/ч. Также, полученный 95% доверительный интервал равный 1,97 – 8,14 и значение  $p < 0,01$ , на уровне статистической значимости равной 5%, позволяют утверждать, что данный результат является статистически значимым.

Таким образом, исходная активность  $XT3 > 150$  нмоль/мл/ч влияет на более высокую вероятность перехода на ИВЛ/НИВЛ госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией. Наглядно результаты представлены на рисунке 10.

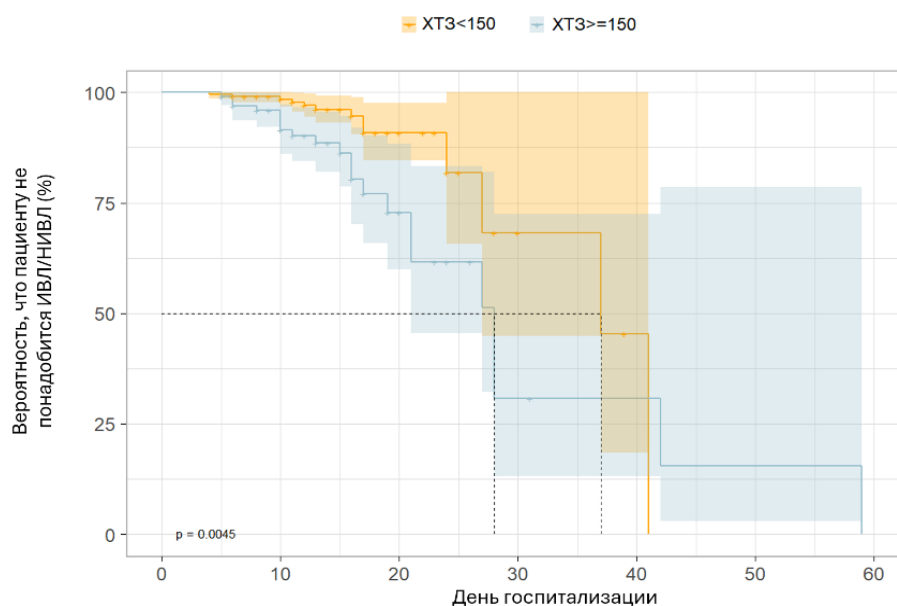


Рисунок 10 - Кривые Каплана-Мейера, показывающие вероятность перехода на ИВЛ/НИВЛ госпитализированных пациентов с COVID-19 с активностью хитотриозидазы выше и ниже 150 нмоль/мл/ч

### **Результаты сравнения прогностической значимости повышения активности хитотриозидазы с известными лабораторными биомаркерами неблагоприятного исхода**

Для сравнения прогностической значимости повышения активности ХТЗ с известными лабораторными биомаркерами неблагоприятными исходами количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы ( $Me$ ) и нижнего и верхнего квартилей ( $Q1 - Q3$ ). Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента, при неравных дисперсиях выполнялось с помощью t-критерия Уэлча. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Помимо ХТЗ в качестве независимых предикторов неблагоприятного прогноза были рассмотрены следующие лабораторные показатели: лейкоциты, лимфоциты, тромбоциты, NLR, СОЭ, СРБ, АСТ, АЛТ, общий белок, альбумин, ферритин, фибриноген, Д-димер.

В связи с отсутствием регламентированных алгоритмов действия и разнообразием пациентов осуществлялся индивидуальный подход к взятию анализов у больных в период госпитализации, поэтому некоторых количественных переменных было недостаточно для проведения достоверной статистической обработки. Например, значений ферритина, фибриногена и Д-димера.

Для сравнения прогностической значимости повышения активности ХТЗ с известными лабораторными биомаркерами проведен многофакторный регрессионный анализ, в который вошли предикторы достижения конечных точек, выявленные на предыдущих этапах анализа, а именно лимфоциты, тромбоциты, NRL, ПИ, креатинин, С-реактивный белок и хитотриозидаза. Результаты ROC-анализа представлены в таблице 6 и таблице 7.

Таблица 6 - Результаты ROC-анализа по определению пороговых значений предикторов неблагоприятного течения COVID-19 (смерть от любых причин)

Параметр	Порог отсечения	AUC
Лимфоциты, тыс/мкл	0,89	0,660
Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л	253,5	0,538
NLR	4,26	0,784
ПИ, %	106,4	0,651
Креатинин, мкмоль/л	100,1	0,652
СРБ, мг/л	83,7	0,718
ХТЗ, нмоль/мл/ч	150	0,683

Таблица 7 – Результаты ROC-анализа по определению пороговых значений предикторов неблагоприятного течения COVID-19 (потребность в переходе на ИВЛ/НИВЛ)

Параметр	Порог отсечения	AUC
Лимфоциты, тыс/мкл	0,89	0,710
Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л	202,5	0,593
NLR	4,26	0,792
ПИ, %	106,4	0,608
Креатинин, мкмоль/л	100,1	0,673
СРБ, мг/л	84,15	0,733
ХТЗ, нмоль/мл/ч	150	0,683

После определения пороговых значений потенциальных лабораторных предикторов неблагоприятного течения COVID-19 были рассчитаны отношения шансов для каждого из них и затем проведена пошаговая логистическая регрессия (Таблица 8, Таблица 9).

Таблица 8 - Пошаговая логистическая регрессия (смерть от любых причин)

<b>Пороговые значения</b>	<b>ОШ (отношение шансов)</b>	<b>95% ДИ (доверительные интервалы)</b>
Лимфоциты менее 0,89 тыс/мкл	3,64	1,739-7,756
Тромбоциты более 253,5 0,10*9/л	3,217	1,373-7,533
NRL более 4,26	2,667	0,794-8,954
Протромбиновый индекс менее 106,4%	3,344	1,540-7,299
Креатинин более 100,1 мкмоль/л	3,527	1,710-7,277
С-реактивный белок более 83,7 мг/л	2,973	1,077-8,208
ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч	2,942	1,433-6,040

Таблица 9 - Пошаговая логистическая регрессия (потребность в переходе на ИВЛ/НИВЛ)

<b>Пороговые значения</b>	<b>ОШ (отношение шансов)</b>	<b>95% ДИ (доверительные интервалы)</b>
Лимфоциты менее 0,89 тыс/мкл	5,076	2,457-10,526
Тромбоциты более 202,5 0,10*9/л	1,94	0,983-3,829
NRL более 4,26	1,455	0,393-5,378
Протромбиновый индекс менее 106,4%	2,222	1,094-4,504
Креатинин более 100,1 мкмоль/л	3,51	1,732-7,113
С-реактивный белок более 84,15 мг/л	2,29	0,784-6,689
ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч	4,006	1,972-8,137

По ее результатам независимыми лабораторными предикторами смерти у госпитализированных пациентов оказались уровень лимфоцитов менее 0,89 тыс/мкл, тромбоцитов более 253,5 0,10\*9/л, протромбиновый индекс менее 106,4 %, креатинин более 100,1 мкмоль/л, С-реактивный белок более 83,7 мг/л и ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч при  $p < 0,05$ .

По отношению к потребности в ИВЛ/НИВЛ: уровень лимфоцитов менее 0,89 тыс/мкл, протромбинового индекса менее 106,4 %, креатинина более 100,1 мкмоль/л, ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч при  $p < 0,05$ .

### **Результаты оценки взаимосвязи исходной активности уровня хитотриозидазы с динамикой данных КТ**

Для оценки взаимосвязи исходной активности ХТЗ с динамикой данных КТ: плотность печени, процент поражения легочной ткани и отношение плотности печени к плотности селезенки (LSR) мы провели субанализ, в который вошли 121 пациент, включенных в исследование. Среди них первичной конечной точки достигли 3 человека (2,43%), 3 (2,43%) пациента находились на респираторной поддержке (ИВЛ/НИВЛ).

Наличие КТ ОГК в день поступления и как минимум еще один раз за период госпитализации - критерии отбора пациентов в субанализ.

Учитывая клиническую картину заболевания, повторное исследование выполнялось в среднем на 7-й [6; 9] день госпитализации.

В данной когорте пациентов из сопутствующих заболеваний чаще всего встречались артериальная гипертензия (58,5%), ожирение (ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup>) (35,4%) и сахарный диабет 14,6%.

Далее мы сравнили динамику выбранных КТ-показателей. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9- Сравнение КТ-данных в динамике

<b>Параметр</b>	<b>КТ в день поступления</b>	<b>КТ повторно</b>	<b><i>p</i></b>
Поражение легких, %	30 [20; 40]	30 [15; 40]	0,384
Плотность печени, HU	52,04 [45,4; 56,7]	57,5 [49,8; 62,7]	0,000
LSR	1,05 [0,91; 1,14]	1,13 [0,99; 1,28]	0,000

Исходя из того, как изменялись КТ-параметры, мы делили пациентов на группы и сравнивали в них исходную активность ХТЗ (Таблица 10).

Таблица 10 - Сравнение активности ХТЗ в зависимости от динамики КТ-данных

Данные КТ	Объем поражения легочной ткани		<i>p</i>	Плотность печени		<i>p</i>	LSR		<i>p</i>
	Увеличился	Не увеличился		Увеличилась	Не увеличилась		Увеличилось	Не увеличилось	
ХТЗ, нмоль/мл/ч	65 [27; 119]	124 [53; 232]	0,006	100 [28; 225]	84 [47; 164]	0,694	88 [26; 215]	105 [68; 202]	0,336

Согласно результатам модели логистической регрессии, представленным в таблице 11, оказалось, что у пациентов с исходной активностью ХТЗ менее 100 нмоль/мл/ч статистически значимо повышены шансы прогрессирования поражения легочной ткани, в то время как динамика показателей плотности печени и селезенки не зависит от исходного уровня ХТЗ.

Таблица 11 - Влияние исходной активности хитотриозидазы &lt;100 нмоль/мл/ч на динамику показателей компьютерной томографии

Динамика КТ-показателей	ОШ (отношение шансов)	95% ДИ (доверительный интервал)
Увеличение объема поражения легочной ткани	3,2	1,4–7,15
Увеличение плотности печени	1,1	0,44–2,78
Увеличение LSR	2,14	0,72–6,33

Хочется отметить, что активность ХТЗ ниже 100 нмоль/мл/ч достоверно сопровождалась прогрессированием поражения легочной ткани. В то же время, повышение фермента выше 150 нмоль/мл/ч было сопряжено с неблагоприятным прогнозом и течением коронавирусной инфекции [101].

Отсутствие влияния активности ХТЗ на динамику плотности печени и селезенки, вероятно, связано с тем, что для выхода купферовских клеток из толерогенного состояния необходимо больше времени и более длительное воздействие провоцирующего фактора, чем в нашем исследовании [101]

### ВЫВОДЫ

1) Активность хитотриозидазы у выживших пациентов была статистически значимо ниже, чем у умерших больных – 90,5 нмоль/мл/ч и 180 нмоль/мл/ч, соответственно ( $p < 0,001$ ). Шансы смертельного исхода у госпитализированных пациентов с COVID-19 с исходной активностью хитотриозидазы более 150 нмоль/мл/ч в 3 раза выше, чем у пациентов с активностью хитотриозидазы менее 150 нмоль/мл/ч (ОШ 2,97; 95% ДИ 1,44-6,12;  $p = 0,003$ ).

2) Активность хитотриозидазы у пациентов без респираторной поддержки (ИВЛ/НИВЛ) была статистически значимо ниже, чем у пациентов, находившихся на ИВЛ/НИВЛ – 85,5 нмоль/мл/ч и 185 нмоль/мл/ч, соответственно ( $p < 0,001$ ). Шансы перехода на ИВЛ/НИВЛ у госпитализированных пациентов с COVID-19 с исходной активностью хитотриозидазы более 150 нмоль/мл/ч в 4 раза выше, чем у пациентов с активностью хитотриозидазы менее 150 нмоль/мл/ч (ОШ 4,01; 95% ДИ 1,97-8,14;  $p < 0,001$ ).

3) Независимыми лабораторными предикторами неблагоприятного исхода заболевания (смерти от любых причин) у госпитализированных пациентов с COVID-19 являются: уровень лимфоцитов менее 0,89 тыс/мкл (ОШ 3,64; 95% ДИ 1,739-7,756), уровень тромбоцитов более 253,5 тыс/мкл (ОШ 3,217; 95% ДИ 1,373-7,533), протромбиновый индекс менее 106,4% (ОШ 3,344; 95% ДИ 1,540-7,299), креатинин более 100,1 мкмоль/л (ОШ 3,527; 95% ДИ 1,710-7,277), СРБ более 83,7 мг/л (ОШ 2,973; 95% ДИ 1,077-8,208), активность ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч (ОШ 2,942; 95% ДИ 1,433-6,040) при  $p < 0,05$  при поступлении в стационар.

4) Независимыми лабораторными предикторами необходимости в переходе на ИВЛ/НИВЛ у госпитализированных пациентов с COVID-19 являются: уровень лимфоцитов менее 0,89 тыс/мкл (ОШ 5,076; 95% ДИ 2,457-10,526), протромбиновый индекс менее 106,4% (ОШ 2,22; 95% ДИ 1,094-4,504), креатинин более 100,1 мкмоль/л (ОШ 3,51; 95% ДИ 1,732-7,113), активность ХТЗ более 150 нмоль/мл/ч (ОШ 4,006; 95% ДИ 1,972-8,137) при  $p < 0,05$  при поступлении в стационар.

5) Повышение активности хитотриозидазы более 150 нмоль/мл/ч на момент госпитализации в 4 раза повышает шансы потребности в ИВЛ/НИВЛ, что превосходит такой показатель как С-реактивный белок.

6) У пациентов с исходной активностью ХТЗ менее 100 нмоль/мл/ч повышаются шансы прогрессирования поражения легочной ткани по данным компьютерной томографии (ОШ 3,2;

95% ДИ 1,4-7,15) при  $p < 0,05$ , в то время как динамика показателей плотности печени и селезенки не зависит от исходной активности фермента.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В план обследования стационарных больных с коронавирусной инфекцией (COVID-19) необходимо включать определение активности хитотриозидазы, как раннего биомаркера смертельного исхода заболевания.
2. Высокий риск летального исхода и необходимости в респираторной поддержке (ИВЛ/НИВЛ) у госпитализированных пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19) с уровнем хитотриозидазы более 150 нмоль/мл/ч должен учитываться в маршрутизации пациентов в условиях стационара.
3. Повышение активности хитотриозидазы более 150 нмоль/мл/ч должно сопровождаться повышенным наблюдением за пациентом и его лечением.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Chitotriosidase as a Potential Biomarker of Survival in Covid-19 Patients / **E. Schelkanovtseva**, G. Isaev, O. Mironova [et al.] // **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. – 2022. – Vol. 205. – P. A5754.
2. **E. Schelkanovtseva**. Chitotriosidase as a Potential Biomarker of Survival in Covid-19 Patients / G. Isaev, O. Mironova [et al.] // American Thoracic Society 2022 International Conference. Poster A5754. San Francisco, 13-18 May 2022.
3. Прогнозирование выживаемости госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией: роль определения активности хитотриозидазы в периферической крови / **Е.С. Щелкановцева**, Г.О. Исаев, О.Ю. Миронова [и др.] // **Терапевтический архив**. – 2023. – Т. 95, № 7. – С. 543-547. – doi: 10.26442/00403660.2023.07.202280. [Scopus]
4. Определение активности хитотриозидазы для прогнозирования неблагоприятных исходов у госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией / **Е.С. Щелкановцева**, О.Ю. Миронова, К.А. Соловьев [и др.] // **Consilium Medicum**. – 2023. – Т. 25, № 3. – С. 163-167. – doi: 10.26442/20751753.2023.3.202093.
5. Активность хитотриозидазы и динамика данных компьютерной томографии у пациентов с COVID-19 / **Е.С. Щелкановцева**, О.Ю. Миронова, К.А. Соловьев [и др.] // **Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины**. – 2023. – Т. 38, № 3. – С. 172-178. – doi: 10.29001/2073-8552-2022-602. [Scopus]