

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046444**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.14

(21) Номер заявки
202391366

(22) Дата подачи заявки
2023.05.02

(51) Int. Cl. **G01N 33/68** (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 33/573 (2006.01)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ COVID-19 У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИ АССОЦИИРОВАННОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

(43) 2024.03.13

(96) 2023/ЕА/0019 (ВУ) 2023.05.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
"ГРОДНЕНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" (ВУ)**

(72) Изобретатель:
**Курбат Михаил Николаевич,
Дорошкевич Инна Петровна (ВУ)**

(56) GAO Qian et al. Interrelationship between 2019-nCov receptor DPP4 and diabetes mellitus targets based on protein interaction network. Scientific Reports, 2022, 12, 188, страница 1, абзац 1, строки 1-4; страница 7, абзац 1

BASSENDINE Margaret F. et al. COVID-19 and comorbidities: A role for dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in disease severity? Journal of Diabetes, 2020, 12, p. 649-658, страница 653, колонка 1, абзац 2, колонка 2, абзац 1, страница 655, колонка 1, абзацы 3, 4, колонка 2, абзац 1

RU-C1-2782796

RU-C1-2764954

ОРТЕНБЕРГ Э.А. и др. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4: очевидное и вероятное (обзор литературы). Медицинский совет, 2022;16(10), стр. 40-45

SEBASTIÁN-MARTÍN Alba et al. Role of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) on COVID-19 Physiopathology. Biomedicines, 2022, 10(8):2026

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к клинической лабораторной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования тяжести течения инфекции COVID-19 у лиц с сопутствующими заболеваниями. Сущность способа заключается в том, что у пациента с лабораторно подтвержденным COVID-19 и с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени в плазме крови определяют концентрацию дипептидилпептидазы-4 (CD26), и при её значении, равном или выше 48 мг/л, прогнозируют тяжелое течение COVID-19 с декомпенсацией сахарного диабета.

B1

046444

046444

B1

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической лабораторной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования тяжести течения инфекции COVID-19 у лиц с сопутствующими заболеваниями.

Риск заражения COVID-19 у людей с сахарным диабетом и другими эндокринными нарушениями такой же, как и у населения в целом. Вместе с тем для этой категории пациентов характерно более тяжелое течение заболевания и высокая вероятность развития осложнений.

Кроме того, коронавирус влияет на эндотелий - пласт клеток, выстилающих внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, сердца. Поражение этих клеток в микрососудистом русле характерно для диабета, потому что эндотелий - инсулинонезависимая ткань и к ней в высокой концентрации стремится глюкоза. Поэтому если пациент живет в условиях гипергликемии - с высокими сахарами, развиваются микрососудистые осложнения, накапливается глюкоза в эндотелиальной клетке, и она постепенно утрачивает свою функцию. Это известные механизмы поздних осложнений диабета, которые, усугубляются на фоне коронавирусной инфекции.

В условиях массовой пандемии, лавинообразного роста количества инфицированных больных и ограниченности ресурсов здравоохранения особое значение приобретает быстрая доступная диагностика заболевания с возможностью оценки тяжести течения заболевания, соответствующая требованиям эпидемиологической безопасности. Особенно это актуально при наличии сопутствующей патологии у пациента с COVID-19.

Основным методом диагностики COVID-19 является полимеразная цепная реакция (ПЦР) с обратной транскрипцией нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2 [1], но этот метод в большом проценте случаев имеет ложноотрицательный результат, и не имеет никакой связи с тяжестью заболевания.

В настоящее время имеется ряд методов диагностики тяжести течения COVID-19 с применением лучевых методов исследования.

Наибольшей чувствительностью в выявлении изменений в легких, характерных для COVID-19, обладает мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки. МСКТ особенно незаменима для первичной оценки ранних интерстициальных изменений легких, а также для дифференциальной диагностики выявленных изменений с другими заболеваниями легких [2].

Главными ограничениями МСКТ являются слабая доступность данной технологии, особенно за пределами крупных городов; необходимость транспортировки пациентов в кабинет МСКТ, что бывает невозможно для тяжелых нестабильных пациентов, и требует более сложных и длительных противоэпидемических мероприятий; вредное воздействие рентгеновского излучения; высокая потребность в МСКТ-исследованиях для диагностики других заболеваний.

Известен способ оценки тяжести пневмонии при COVID-19 с помощью ультразвукового метода исследования, характеризующийся тем, что проводят ультразвуковое сканирование легких в соответствии с 20- или 16-зонным протоколом, с расположением датчика вдоль межреберного промежутка, осуществляют дифференцирование умеренных либо выраженных интерстициальных изменений, при этом умеренные интерстициальные изменения определяют при выявлении утолщенной неровной плевральной линии и более двух не сливающихся между собой В-линий, эхогенность которых ниже эхогенности плевральной линии, с максимальной толщиной В-линий до 3 мм в месте отхождения от плевральной линии [3].

Однако этот способ требует наличия оборудования экспертного класса.

Наиболее близким к заявляемому является способ лабораторной диагностики тяжести COVID-19 по определению соотношения активности фактора Виллебранда и ADAMTS-13, основанный на определении фактора Виллебранда в крови [4]. У пациента с диагнозом COVID-19, подтвержденным лабораторно, при определении в плазме крови фактора Виллебранда оценивают его ристоцитин-кофакторную активность и, дополнительно, определяют активность ADAMTS-13. Затем рассчитывают соотношение активности фактора Виллебранда и ADAMTS-13. При соотношении менее 1,55 диагностируют у пациента легкую степень тяжести COVID-19.

Недостатками данного способа являются: сложность оценивания ристоцитин-кофакторной активности, требующей проведение иммунохемилюминисцентного анализа, отличается плохой воспроизводимостью и малой чувствительностью при низких уровнях фактора фон Виллебранда, и является достаточно трудоемким.

Имеющиеся способы не позволяют оценить тяжесть течения COVID-19 у пациентов с сопутствующей отягощающей патологией, к примеру с эндокринными нарушениями.

Задача изобретения - создание способа прогнозирования тяжести течения инфекции COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени, обладающего высокой точностью и специфичностью.

Поставленная задача решается путем исследования плазмы крови у пациента с лабораторно подтвержденным COVID-19, при этом отличие состоит в том, у пациента с сопутствующим сахарным диабетом (СД) 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени в плазме крови определяют концентрацию дипептидилпептидазы-4 (CD26), и при её значении, равном или выше 48 мг/л, прогнозируют тяжелое течение COVID-19 с декомпенсацией сахарного диабета.

Дипептидилпептидаза-4 представляет собой сериновую протеазу, расщепляющую широкий спектр субстратов, включая инкретиновые гормоны, цитокины и факторы роста. CD26 присутствует в организме в растворимой и связанной с мембраной формах. Считается, что изменение уровней растворимой CD26 отмечается не только при сахарном диабете 2 типа, но и при вирусных инфекциях [5].

Способ осуществляют следующим образом. У пациента с лабораторно подтвержденным COVID-19 с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени при обращении за медицинской помощью в амбулаторно-поликлиническую сеть или в первые сутки пребывания в стационаре осуществляют забор венозной крови и в плазме определяют концентрацию CD26. При концентрации CD26 равном или выше 48 мг/л прогнозируют тяжелое течение COVID-19 с декомпенсацией сахарного диабета.

Приводим доказательства возможности осуществления заявляемого способа.

Для выявления влияния уровня CD26 на тяжесть течения инфекции COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с жировой болезнью печени пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 включала пациентов с насыщением крови кислородом (SpO_2) $\geq 95\%$, группа 2 - $SpO_2 < 95\%$ (таблица).

Характеристика 1 и 2 групп сравнения (по степени SpO_2)

Показатель	Группа 1, Me [25;75]	Группа 2, Me [25;75]
$SpO_2(\%)$	95,0[95,0;96,0]	89,0[87,0;91,0]
Гликированный гемоглобин (%)	7,5[7,0;7,5]*	8,9[8,0;10,1]
Стаж СД (лет)	7,6[7,3;8,5]*	9,0[8,0;10,5]
Индекс массы тела ($кг/м^2$)	35,5[32,5;34,5]	36,9[35,0;39,0]
Возраст (лет)	52,0[50,0;56,0]	55,0[48,0;57,0]
Среднее значение гликемии (ммоль/л)	7,6[7,4;9,1]	8,7[8,4;9,3]
Гемоглобин (г/л)	123[118,0;130,0] *	110[109,0;117,0]
Эритроциты ($\cdot 10^{12}/л$)	4,2[3,9;5,0]	4,7[3,9;4,5]
Лейкоциты ($\cdot 10^9/л$)	5,6 [4,9;6,4]	6,0 [5,4;6,0]
Лимфоциты (%)	15,0[10,0;16,0] *	7,0[6,0;9,0] *
CD26 (растворимый (мг/л))	73,96[54,0;88,95] *	41,16[32,36;49,18]
С-реактивный белок (СРБ) (мг/л)	35,4[27,0;43,0] *	67,2[41,0;71,0]
Интерлейкин-6 (пг/мл)	35,4[14,5;53,0] *	51,8[42,0;59,0]
Ферритин (нг/мл)	360,0[340,0;412,0] *	780,0[720,0;820,0]
МСКТ легких (% повреждения легочной ткани)	50,3[40,0;60,0] *	67,7[65,0;70,0]

Примечание - * - $p < 0,05$ между группами.

Анализ результатов позволил установить, что у пациентов группы 1 значение гликированного гемоглобина (HbA1c) было на 1,4% ниже (7,5% против 8,9%; $p = 0,034$). Также в группе 2 выявлен больший процент поражения легочной ткани по данным МСКТ (67,7[65,0; 70,0]% против 50,3[40,0; 60,0]%, $p = 0,001$).

В группе 2 отмечены наименьшие показатели гемоглобина 110[109,0; 117,0]г/л против 123[118,0; 130,0] г/л ($p = 0,021$); лимфоцитов 7,0[6,0;9,0]% против 15,0[10,0; 16,0]% ($p = 0,017$); растворимого DPP (41,16[32,36; 49,18] нг/мл против 73,96[54,0; 88,95] нг/мл, $p = 0,001$) и наибольшие значения маркеров воспаления С-реактивного белка (СРБ) 67,2[41,0; 71,0] мг/л против 35,4[27,0; 43,0]мг/л ($p = 0,002$); интерлейкина-6 - 51,8[42,0; 59,0] пг/мл против 35,4[14,5; 53,0] пг/мл ($p = 0,001$); ферритина 780,0[720,0; 820,0] нг/мл против 360,0[340,0; 412,0] нг/мл ($p = 0,003$).

Корреляционный анализ по методу Спирмена позволил определить зависимость между показателями растворимого DPP и SpO_2 ($r = 0,569$), повреждением легочной ткани по данным КТ ($r = -0,731$), значением лимфоцитов ($r = 0,419$), ИЛ6 ($r = -0,491$) и СРБ ($r = -0,635$) в группе 2. В группе 1, у пациентов с легким течением инфекции COVID-19 отмечаются корреляционные зависимости между показателями растворимого CD26 и ИЛ 6 ($r = -0,611$) и СРБ($r = -0,523$).

Для оценки диагностической эффективности дипептидилпептидазы-4 проводили построение и анализ характеристической кривой (Receiver Operator Characteristic, ROC-анализ) с использованием программного обеспечения SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.) (фиг. 1).

Чем ближе кривая к диагонали ($AUC = 0,5$), тем ниже диагностическая ценность показателя, чем ближе площадь под кривой к 1, тем эффективнее диагностический тест.

На фиг. 1 изображены ROC-кривая для дипептидилпептидазы-4 при декомпенсации сахарного диабета на фоне инфекции COVID-19. Статистические характеристики ROC-кривой: площадь под кривой (AUC) равна $0,954 \pm 0,026$; 95% доверительный интервал 0,902-1,000.

С помощью этой кривой находилась точка разделения, оценивалась чувствительность и специфичность данного коэффициента при использовании найденной точки разделения. Выявлено прогностическое значение CD26 для прогнозирования тяжести течения инфекции COVID-19, возникающего у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени. Так при точке разделения ≥ 48 мг/л можно прогнозировать тяжелое течение инфекции COVID-19 и декомпенсацию сахарного диабета (чувствительность 94%; специфичность 83%).

В качестве иллюстрации приводим примеры конкретных клинических наблюдений.

Пример 1. Пациент Н. Диагноз: инфекция COVID-19, сахарный диабет второго типа, жировая болезнь печени. Сатурация крови кислородом (SpO₂) 90%, HbA1c - 9,4%, среднее значение гликемии - 8,7 ммоль/л. Концентрация дипептидилпептидазы-4 составила 88,06 мг/л. Прогнозируется тяжелое течение инфекции COVID-19 с декомпенсацией сахарного диабета. Пациент длительно находился в отделении интенсивной терапии с применением высокопоточной инсуффляции кислорода. Установлено наличие интерстициального повреждения легочной ткани (процент повреждения легочной ткани (по данным МСКТ) - 65%), распространенных повреждений паренхимы по типу "матового стекла" и ретикулярных изменений в легких, трудности достижения целевых показателей гликированного гемоглобина

Пример 2. Пациент Б. Диагноз: инфекция COVID-19, сахарный диабет второго типа, жировая болезнь печени. Сатурация крови кислородом - (SpO₂) 92%, процент повреждения легочной ткани (по данным МСКТ) - 35%, HbA1c - 7,0%, среднее значение гликемии - 5,1 ммоль/л. Концентрация дипептидилпептидазы-4 составила 3,62 мг/л. Прогнозируется легкое течение инфекции COVID-19 с компенсированной формой сахарного диабета. Лечение проводилось в эндокринологическом отделении, SpO₂ быстро вернулась к физиологическим значениям

Таким образом, заявляемый способ позволяет с высокой точностью прогнозировать тяжесть течения заболевания COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом второго типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени.

Литература.

1. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 22.06.2022 № 841 "Об организации оказания медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19".

2. Мультиспиральная компьютерная томография в ранней диагностике пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 / П.М. Котляров [и др.] // Пульмонология. - 2020. - Т. 30, № 5. -561-568.

3. RU 2729368 опубл. 06.08.2020.

4. RU 2774143 С1, опубл. 15.06.2022.

5. Новиков В.В. "Шторм" растворимых дифференцировочных молекул при COVID-19 / В. В. Новиков, А. В. Караулов // Иммунология. - 2022. - Т. 43, № 4. - 458-467.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ прогнозирования тяжести течения инфекции COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени, включающий исследование плазмы крови у пациента с лабораторно подтвержденным COVID-19, отличающийся тем, что у пациента с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа и метаболически ассоциированной жировой болезнью печени в плазме крови определяют концентрацию дипептидилпептидазы-4 (CD26), и при её значении, равном или выше 48 мг/л, прогнозируют тяжелое течение COVID-19 с декомпенсацией сахарного диабета.

