

Головатюк
Ксения Андреевна

ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ВИТАМИНОМ D В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ
НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
И ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА
В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ COVID-19

3.1.19. Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Каронова Татьяна Леонидовна, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Демидова Татьяна Юльевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, кафедра эндокринологии, заведующая

Маркова Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра эндокринологии, профессор

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится 19 июня 2024 года в 15:30 на заседании диссертационного совета 21.1.028.01 (Д 208.054.03) на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке на официальном сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, www.almazovcentre.ru)

Автореферат разослан «__»_____2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.1.028.01 (Д 208.054.03),
кандидат медицинских наук, доцент



Леонова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Дефицит витамина D остается значимой проблемой для многих стран вне зависимости от географического положения (Cashman K.D., 2022). Российские исследования последних лет подтвердили данные о сохраняющейся распространенности недостаточности и дефицита витамина D практически у 80% населения различных регионов Российской Федерации (РФ) (Каронова Т.Л. с соавт., 2013; Суплотова Л.А. с соавт., 2021). Помимо основных функций, в виде регуляции фосфорно-кальциевого обмена и поддержания здоровья костей, в настоящее время активно изучаются внескелетные эффекты витамина D в отношении онкологических, аутоиммунных, сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений (Pludowski P. et al., 2019; Carlberg C., 2020; Charoenngam N., Holick M.F., et al., 2020; Gallo L. et al., 2020). В ранее проведенных исследованиях сообщалось о наличии связи между низким уровнем 25-гидроксивитамина D (25(OH)D) в сыворотке крови и повышенным риском инфицирования и/или тяжелого течения инфекционных заболеваний, включая острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) (Berry D. et al., 2011; Pham H. et al., 2019). В связи с этим в период пандемии новой коронавирусной инфекции (НКВИ) особый интерес представляет изучение роли дефицита витамина D именно с точки зрения его вклада в развитие и течение COVID-19.

Пандемия НКВИ, или COVID-19, нанеся колоссальный ущерб практически всем сферам общества, в настоящее время остается одной из важнейших проблем, изучением методов профилактики и лечения которой занимаются во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения к марту 2024 г. во всем мире выявлено более 774 млн случаев заболевания, вызванного SARS-CoV-2, а количество летальных исходов превысило 7 млн (URL:<https://covid19.who.int>). Данные исследований последних лет показали, что низкая обеспеченность витамином D приводит к увеличению инфицированности и ухудшению течения COVID-19 (Radujkovic A. et al., 2020; AlSafar H. et al., 2021; Petrelli F. et al., 2021; Infante M. et al., 2022). Принимая во внимание известные иммуномодулирующие эффекты кальцитриола (1,25-дигидроксивитамин D (1,25(OH)₂D)) в условиях респираторной вирусной инфекции, оптимальный уровень витамина D может влиять на иммуновоспалительную реакцию при COVID-19 путем подавления чрезмерного цитокинового ответа, являющегося основой для формирования цитокинового шторма (Cutolo M. et al., 2020; Arora J. et al., 2022). В то же время, дефицит витамина D в отличие от других факторов, отягощающих течение COVID-19, а именно пожилой возраст, мужской пол, наличие сердечно-сосудистых заболеваний, сахарный диабет, активный онкологический процесс (Fang X. et al., 2020; Martono M. et al., 2023), может быть своевременно скорректирован при помощи приема препаратов витамина D как на этапе, предшествующем инфицированию, так и в остром периоде заболевания. Анализ интервенционных исследований по изучению добавления к основной терапии COVID-19 препаратов витамина D показал противоречивые результаты в мире (Cereda E. et al., 2021; Soliman A.R. et al., 2021; Varikasuvu S.R. et al., 2022; Oristrell J. et al., 2022), и отсутствие таких данных в РФ на момент выполнения диссертационного исследования. В связи с этим, изучение вклада дефицита витамина D в течение и прогноз COVID-19 и возможности использования препаратов витамина D в дополнение к основной терапии у больных в остром периоде заболевания представляет научный и практический интерес.

Степень разработанности темы исследования

Согласно данным поисковой системы PubMed с начала пандемии новой коронавирусной инфекции опубликовано 264 полнотекстовых статьи, посвященных проблеме COVID-19 и дефицита витамина D, и 75 клинических исследований, включая рандомизированные, с использованием препаратов витамина D в различных дозах. В то же время, база данных eLibrary за этот период демонстрирует наличие всего 72 работ, посвященных данной теме, и лишь единичных интервенционных исследований.

К настоящему времени иммуномодулирующие эффекты витамина D изучены частично и известная вовлеченность дефицита витамина D при ОРВИ полностью не может быть транслирована на больных COVID-19. Результаты нескольких зарубежных мета-анализов и систематических обзоров продемонстрировали отрицательную корреляционную связь между концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови и позитивным результатом тестов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на SARS-CoV-2, а также тяжестью течения, длительностью госпитализации и летальностью от COVID-19 (Teshome A. et al., 2020; Kaya M.O. et al., 2021; Chiodini I. et al., 2021). Результаты отдельных исследований обнаружили, что значения 25(OH)D < 12 нг/мл связаны с более высоким риском применения инвазивной вентиляции легких (Radujkovic A. et al., 2020). Дополнительно, была выявлена ассоциация между дефицитом витамина D и более высокими концентрациями показателей острой фазы и провоспалительных цитокинов в период разгара COVID-19 (Jain A et al., 2020; Saeed M.A.M. et al., 2022; Saponaro F. et al., 2022).

В то же время, встречаются исследования, не показавшие значимого влияния низкой обеспеченности витамином D на течение COVID-19 (Hastie C.E. et al., 2020; Pizzini A. et al., 2020; Bignardi P.R. et al., 2022). Следует отметить тот факт, что отечественные работы, посвященные данной проблеме, остаются малочисленными, а анализ наличия связи уровня 25(OH)D с заболеваемостью COVID-19 посредством оценки результатов ПЦР-тестов на SARS-CoV-2 на территории РФ ранее не проводился.

Принимая во внимание наличие в литературе неоднозначных данных, вопросы эффективности терапии витамином D, выбора дозы, формы препарата в рамках профилактики и лечения COVID-19 остаются предметом дискуссий. Таким образом, результаты исследований, включая интервенционные, а также данные мета-анализов и систематических обзоров остаются противоречивыми, чем обусловлена актуальность проведения настоящей научно-исследовательской работы.

Цель исследования

Оценить обеспеченность витамином D в период пандемии новой коронавирусной инфекции и вклад дефицита витамина D в течение и исход COVID-19 для уточнения возможностей применения колекальциферола с целью профилактики и комплексного лечения.

Задачи исследования

1. Оценить встречаемость дефицита витамина D и его связь с инфицированностью SARS-CoV-2 в популяции в период пандемии новой коронавирусной инфекции.
2. Оценить уровень 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови у больных с различной степенью тяжести COVID-19, госпитализированных в инфекционный стационар.
3. Оценить клинические, биохимические и иммунологические параметры у больных COVID-19 в острый период с различным уровнем 25(OH)D в сыворотке крови и вклад дефицита витамина D в течение и прогноз заболевания.
4. Установить влияние терапии колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ на клинические, биохимические и иммунологические параметры, а также на течение и исход заболевания у больных COVID-19 разной степени тяжести.

Научная новизна

В ходе настоящего исследования проведен актуальный анализ встречаемости недостаточности и дефицита витамина D в период пандемии новой коронавирусной инфекции у жителей различных регионов Российской Федерации и среди госпитализированных в инфекционный стационар больных COVID-19 разной степени тяжести.

Установлено отсутствие связи между обеспеченностью витамином D и инфицированностью COVID-19 на основании сопоставления результатов ПЦР-тестов на SARS-CoV-2 и концентрации 25(OH)D в сыворотке крови у жителей Российской Федерации.

Установлено, что низкая обеспеченность витамином D у больных COVID-19 ассоциирована с более тяжелым течением, большей длительностью госпитализации и частотой перевода в отделение реанимации и интенсивной терапии, а также с более высокими показателями С-реактивного белка, ферритина, лактатдегидрогеназы и большим объемом поражения легких.

Установлены пороговые значения 25(OH)D, при которых повышаются риски тяжелого течения новой коронавирусной инфекции и летального исхода.

В остром периоде у больных COVID-19 не выявлено связи между уровнем 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови.

В открытом рандомизированном исследовании получены данные, свидетельствующие о том, что терапия колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ не только приводит к увеличению концентрации 25(OH)D, но и ассоциирована с более значимым повышением количества нейтрофилов и лимфоцитов, а также более значимым снижением уровня С-реактивного белка по сравнению со стандартной терапией, не включающей препараты витамина D.

Теоретическая и практическая значимость

Установлено, что среди госпитализированных больных со средней и тяжелой степенью тяжести COVID-19 наблюдается более высокая встречаемость недостаточности и дефицита витамина D, чем в популяции Российской Федерации. Выявлено, что низкий уровень 25(OH)D не влияет на инфицированность SARS-CoV-2, но в то же время вносит негативный вклад в течение и прогноз новой коронавирусной инфекции.

Доказано, что концентрация 25(OH)D ниже 11,4 нг/мл и 11,7 нг/мл у больных COVID-19, независимо от сопутствующей патологии и возраста, ассоциируется с летальным исходом и тяжелым течением соответственно. Обоснована эффективность применения колекальциферола в суммарной дозе 100 000 МЕ для повышения концентрации 25(OH)D в острый период COVID-19.

Независимо от степени обеспеченности витамином D и наличия терапии колекальциферолом продемонстрировано повышение уровня 1,25(OH)₂D в остром периоде COVID-19, что может свидетельствовать в пользу влияния на конечный синтез D-гормона основного заболевания.

Выявлены преимущества применения колекальциферола в насыщающей дозе 100 000 МЕ у больных COVID-19 с исходной недостаточностью и дефицитом витамина D на динамику воспалительных показателей (нейтрофилы, лимфоциты и С-реактивный белок).

Полученные данные позволяют рекомендовать определение концентрации 25(OH)D при новой коронавирусной инфекции и в случае выявления недостаточности и дефицита включать в комплексную терапию препараты колекальциферола.

Методология и методы исследования

Исследование проведено в два этапа в период с марта 2020 г. по декабрь 2022 г. на базе НИЛ клинической эндокринологии Института эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Первым этапом было выполнено поперечное исследование по типу «случай-контроль», в которое были включены данные 21506 жителей Российской Федерации, проходивших обследование в период с марта по октябрь 2020 г. Анализ включал сопоставление уровня 25(OH)D в сыворотке крови с результатами ПЦР-тестов на SARS-CoV-2.

Вторым этапом с декабря 2020 г. по март 2021 г. было проведено поперечное исследование с анализом уровня 25(OH)D у 311 больных, госпитализированных в инфекционный стационар с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией разной степени тяжести. В открытое рандомизированное интервенционное исследование по оценке использования насыщающих доз колекальциферола были включены 129 участников.

Для реализации поставленной цели и задач диссертационной работы были применены современные методы клинического и лабораторного, а также инструментального исследования.

С использованием общепринятых методов статистического анализа была выполнена обработка полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В период пандемии COVID-19 наблюдается высокая встречаемость недостаточности и дефицита витамина D у жителей Российской Федерации независимо от географического региона проживания. Низкий уровень 25(OH)D в сыворотке крови не связан с увеличением риска инфицированности SARS-CoV-2 в общей популяции.
2. Среди госпитализированных больных COVID-19 встречаемость недостаточности и дефицита витамина D выше по сравнению с общей популяцией. Низкая обеспеченность витамином D вносит вклад в тяжесть течения, длительность госпитализации и частоту перевода в отделение реанимации и интенсивной терапии. Значения $25(OH)D \leq 11,7$ нг/мл и $\leq 11,4$ нг/мл ассоциированы с увеличением риска тяжелого течения и летального исхода от COVID-19.
3. У больных COVID-19 в остром периоде заболевания концентрация $1,25(OH)_2D$ в сыворотке крови не зависит от степени обеспеченности витамином D, а дефицит витамина D ассоциирован с более высокими показателями маркеров воспаления (С-реактивный белок, лактатдегидрогеназа, ферритин), объемом поражения легких и не связан с изменением уровня цитокинов.
4. Терапия колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ в остром периоде COVID-19 у больных средней и тяжелой степени тяжести, госпитализированных в инфекционный стационар, приводит к увеличению 25(OH)D, но не оказывает влияния на уровень $1,25(OH)_2D$ и показатели цитокинов. В то же время, у лиц с исходными недостаточностью и дефицитом витамина D данная терапия ассоциирована с более высоким значением нейтрофилов и лимфоцитов, а также с более низким уровнем С-реактивного белка.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным размером выборки на всех этапах работы, использованием высокоточных методов лабораторного и инструментального исследования, обработкой данных с помощью современных методов статистического анализа.

На заседании Проблемной комиссии по сердечно-сосудистым заболеваниям и эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России 22.02.2024 состоялась официальная апробация диссертационного исследования. Основные результаты научно-исследовательской работы представлены на различных конференциях и конгрессах: Двадцать третий Европейский конгресс эндокринологов, май 2021 г., виртуальный конгресс; IV Инновационный Петербургский медицинский форум с международным участием, май 2021 г., Санкт-Петербург, Россия; VI молодежный научный форум «Наука будущего – наука молодых», ноябрь 2021 г., Санкт-Петербург, Россия; Всероссийский междисциплинарный конгресс «Молчановские чтения-2022», апрель 2022 г., Санкт-Петербург, Россия; V Инновационный Петербургский медицинский форум, май 2022 г., Санкт-Петербург, Россия; Алмазовский молодежный медицинский форум, май 2022 г., Санкт-Петербург, Россия; Научно-практическая конференция молодых ученых-медиков с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное», июнь 2022 г., Москва, Россия; Вторая Санкт-Петербургская молодежная школа-конференция с международным участием «Актуальные вопросы эпидемиологии, иммунологии, профилактики и лечения COVID-19», июнь 2022 г., Санкт-Петербург, Россия; Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Дни остеопороза в Санкт-Петербурге», март 2023 г., Санкт-Петербург, Россия; Двадцать пятый Европейский конгресс эндокринологов, май 2023 г., Стамбул, Турция.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022) в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice). Протокол исследования и форма информированного согласия

(версия 1.1 от 20.11.2020) одобрены Этическим Комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России 30 ноября 2020 г. (выписка № 11-20-02С). Все больные подписали информированное согласие на участие в научно-исследовательской работе.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры эндокринологии Института медицинского образования и в лечебную работу консультативно-диагностического центра Университетской клиники ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор диссертационной работы принимал участие в сборе и анализе посвященных теме исследования данных литературы. В рамках работы в условиях инфекционного отделения лично осуществлял разработку дизайна исследования, набор госпитализированных пациентов с их дальнейшим обследованием. Автором была создана база данных больных новой коронавирусной инфекцией, выполнялся анализ и статистическая обработка с дальнейшей систематизацией результатов, подготовкой публикаций и докладов с основными выводами исследования.

Публикации

По результатам диссертационного исследования опубликовано 20 научных статей, из них 11 представлены в изданиях, рецензируемых Высшей Аттестационной Комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации, и в журналах, индексируемых в Scopus. В ходе исследования также была создана и зарегистрирована база данных больных COVID-19 с известным уровнем 25(ОН)D «Уровень обеспеченности витамином D в структуре клинично-лабораторных и инструментальных характеристик больных COVID-19 различной степени тяжести» (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023623357, 05.10.2023).

Объем и структура

Диссертационная работа изложена на 124 страницах. Структура диссертации включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, описание собственных результатов с их обсуждением, заключение и выводы, практические рекомендации с уточнением перспектив дальнейшей разработки темы исследования, а также списка сокращений и списка литературы. Диссертация содержит 15 таблиц и 17 рисунков, библиографический список представлен 170 источниками, включая 15 отечественных работ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании выделены 2 этапа. **Первым этапом** с целью актуализации данных о встречаемости недостаточности и дефицита витамина D в период с 26.03.2020 по 31.10.2020 выполнено поперечное исследование по типу «случай-контроль» с изучением уровня 25(ОН)D у жителей восьми регионов РФ, включая лиц, инфицированных SARS-CoV-2. Из 304564 человек, проходивших обследование в этот период времени, в сравнительный анализ были включены данные исследований 21506 участников с известным уровнем 25(ОН)D крови и результатами ПЦР-теста на SARS-CoV-2. Из них 12390 (57,6%) участников были жителями Северо-Западного федерального округа (ФО), 3499 (16,3%) – Уральского ФО, 2970 (13,8%) – Центрального ФО, 1394 (6,5%) – Северо-Кавказского, 503 (2,3%) – Южного ФО, 417 (1,9%) – Приволжского ФО, 319 (1,5%) – Сибирского ФО, 14 (0,1%) – Дальневосточного ФО. Если за период исследования пациент имел более одного показателя 25(ОН)D в сыворотке крови, для статистического анализа использовались результаты, максимально приближенные к дате выполнения ПЦР-теста.

Вторым этапом проведено исследование обеспеченности витамином D больных COVID-19 разной степени тяжести, госпитализированных в инфекционный стационар ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, а также анализ вклада дефицита витамина D в течение и прогноз заболевания и влияния терапии колекальциферолом на клинические и лабораторные параметры (проспективное интервенционное исследование). В период с 10.12.2020 по 15.03.2021 в исследование включены 311 больных (150 (48,2%) женщин, 161 (51,8%) мужчина) в возрасте от 18 до 75 лет, подписавших информированное согласие на участие в исследовании. Положительный результат ПЦР-теста на SARS-CoV-2 и/или данные мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) являлись методами, подтверждающими диагноз COVID-19. Исходно у данных больных выполнены клиническое, лабораторное и инструментальное исследования.

В открытое интервенционное рандомизированное исследование из 311 участников были включены 129 больных (63 (48,8%) женщин, 66 (51,2%) мужчин), которые методом таблицы случайных чисел были рандомизированы на 2 группы в отношении 1:1. Больным Группы I к основной терапии был добавлен витамин D в виде водного раствора колекальциферола в дозе 50000 МЕ в первый и восьмой дни госпитализации. Больные Группы II терапию колекальциферолом не получали. Конечными точками исследования были степень тяжести заболевания, длительность госпитализации, госпитализация в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), исход заболевания, динамика уровня 25(OH)D в сыворотке крови и воспалительных маркеров. Оценка лабораторных показателей выполнялась исходно и на девятый день госпитализации. Все включенные участники завершили исследование.

У части больных (22 пациента в каждой группе) проведена оценка уровня 1,25(OH)₂D и цитокинового профиля (Группа Ia и Группа IIa). Оценка цитокинов на девятый день госпитализации в зависимости от терапии колекальциферолом была выполнена с исключением больных, получивших за период наблюдения терапию антагонистами рецептора интерлейкина-6 (IL-6) (у 16 больных Группы Ia и 15 больных Группы IIa).

Критерии включения: больные с диагнозом COVID-19 в возрасте 18-75 лет, положительный ПЦР-тест на SARS-CoV-2 и/или инструментальное подтверждение COVID-19 (результаты МСКТ органов грудной клетки (ОГК)), подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения: регулярный прием препаратов витамина D в дозе более 1000 МЕ в сутки; первичный гиперпаратиреоз или гиперкальциемия другой этиологии; непереносимость или аллергическая реакция на водорастворимую форму колекальциферола; больные с клинически значимой патологией желудочно-кишечного тракта, печени, почек (скорость клубочковой фильтрации менее 45 мл/мин/1,73 м²), которые могли бы повлиять на всасывание и метаболизм витамина D; больные с онкологическими заболеваниями в анамнезе (менее 5 лет); наличие туберкулеза, саркоидоза и других гранулематозных заболеваний; прием глюкокортикостероидов (ГКС) и антиконвульсантов до поступления в стационар; беременность и период грудного вскармливания; алкогольная и наркотическая зависимость; другие обстоятельства, которые исследователь считал неуместными для участия в данном исследовании.

Критерии исключения: решение пациента отказаться от дальнейшего участия в исследовании, несоблюдение режима приема препаратов витамина D.

Дизайн второго этапа исследования представлен на Рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн второго этапа исследования

Примечание – SpO₂ – сатурация, МСКТ ОГК – мультиспиральная компьютерная томография органов грудной клетки, 25(OH)D – 25-гидроксивитамин D, 1,25(OH)₂D – 1,25-дигидроксивитамин D, ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

Методы исследования

Клиническое обследование включало анализ демографических данных (пол и возраст), антропометрические методы исследования (рост, вес, индекс массы тела (ИМТ)), физикальный осмотр, анализ жалоб и анамнеза. По данным критериев ВОЗ (WHO, 2000) ИМТ равный и более 30 кг/м² определял наличие ожирения. Также, клиническое обследование включало оценку данных анамнеза, наличия сопутствующих заболеваний, сроков госпитализации с момента появления первых симптомов COVID-19, сатурации и необходимости кислородной поддержки, степени тяжести основного заболевания, частоты перевода в ОРИТ и исхода заболевания. Степень тяжести COVID-19 (легкое, среднетяжелое, тяжелое, крайне тяжелое течение) устанавливалась согласно временным методическим рекомендациям Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» девятой и десятой версии от 26.10.2020 и 08.02.2021 соответственно, на основании клинической картины заболевания, физикальных параметров, проявлений острого респираторного дистресс-синдрома, острой дыхательной недостаточности, уровня сатурации, С-реактивного белка (СРБ) и других показателей острой фазы, объема поражения легких по данным МСКТ.

На первом этапе исследования с целью верификации диагноза COVID-19 исследование РНК коронавируса SARS-CoV-2 выполнялось методом ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV) с использованием амплификатора детектирующего «ДТ Прайм» и наборов для выявления РНК коронавирусов (производитель ООО «ДНК-Технология ТС»). Уровень 25(OH)D в сыворотке крови определялся методом хемилюминесцентного иммуноанализа на анализаторе UniCel DxI800 (Beckman Coulter, США) с использованием систем UniCel DxI. Исследования выполнены на базе лаборатории ООО «НПФ «ХЕЛИКС».

Лабораторная диагностика больных COVID-19 выполнялась на базе клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова». Уровень 25(OH)D в сыворотке крови определен на анализаторе Architect c8000 (Abbott Laboratories, США) с использованием метода хемилюминесцентного иммуноанализа и диагностических реагентов и калибратора фирмы, уровень 1,25(OH)₂D –

методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора (ELISA Kit (DHVD3), CEA467Ge, Cloud-Clone Corp., Китай). Клинический анализ крови (КАК) выполнен на анализаторе XT-1800i (Sysmex, Япония). На основании полученных данных рассчитано нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение (НЛС) по формуле: нейтрофилы $(0') \times 10^9/L$ / лимфоциты $(0') \times 10^9/L$. Уровень глюкозы в плазме и креатинина в сыворотке крови были определены с помощью биохимического анализатора Cobas Integra c311 (Roche Diagnostics GmbH, Германия). СРБ и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) были измерены с использованием иммунохимического электрохемилюминесцентного анализатора Cobas Integra e411 (Roche Holding GmbH, Германия). Ферритин определен на биохимическом модульном анализаторе Architect c8000 Processing Module (Abbott Laboratories, США). Уровень D-димера оценен с помощью анализатора ACL TOP 300 CTS, (Bedford, США). Оценка иммунологических параметров выполнялась посредством мультиплексного флюоресцентного анализатора MAGPIX System с использованием калибраторов Milliplex MAP Kit. Иммунологическая панель исследуемых цитокинов была представлена следующими показателями: TNF- α , интерферон-гамма (IFN- γ), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-17A, IL-21, макрофагальный белок воспаления 3a (MIP-3a).

Забор образцов крови выполнялся в утренние часы из периферической вены в пластиковые вакуумные пробирки Vacutest общим объемом 30 мл для определения показателей КАК, глюкозы в плазме, креатинина, СРБ, ЛДГ, ферритина, D-димера. Исследование вышеуказанных показателей выполнялось за период госпитализации больных. Определение 25(OH)D, 1,25(OH) $_2$ D и цитокинов выполнялось единожды после завершения больными участия в исследовании. Образцы крови после центрифугирования со скоростью 3000 об/мин в течение 15 минут были заморожены при температуре -70 °C и хранились до момента постановки.

Объем и степень поражения легких оценивались по результатам МСКТ ОГК, выполненной на аппарате Luminos DRF (Siemens, Германия) на базе отделения лучевой диагностики НМИЦ им. В.А. Алмазова. В соответствии с временными методическими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации, девятая и десятая версия от 26.10.2020 и 08.02.2021 соответственно, в зависимости от площади поражения легочной ткани выделены следующие степени тяжести COVID-19 по данным МСКТ: МСКТ-1 (минимальный) – объем поражения <25%, МСКТ-2 (средний) – объем поражения 25-49%,

МСКТ-3 (значительный) – объем поражения 50-75%, МСКТ-4 (субтотальный) – объем поражения >75%.

Статистический анализ

Статистическая обработка проведена с помощью SPSS для Windows (версия 26, США) с использованием стандартных методов вариационной статистики и в программе Jamovi, (версия 2.3.2, Австралия). Данные представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (25-й;75-й перцентили): (Me [Q25;Q75]). Для оценки статистической значимости различий между двумя независимыми группами использован U-критерий Манна-Уитни, для оценки статистической значимости различий между двумя зависимыми показателями – W-критерий Уилкоксона. Для корреляционного анализа применен критерий корреляции Спирмена. При оценке статистической значимости полученных результатов выбрана вероятность случайной ошибки менее 5% ($p < 0,05$). Для значений 25(OH)D выполнен ROC-анализ с оценкой чувствительности и специфичности полученных критериев. С целью описания относительного риска рассчитано отношение шансов с 95% доверительным интервалом. Также, проведена множественная логистическая регрессия для уточнения предикторов тяжелого течения и летального исхода COVID-19. Для расчета достаточной выборки больных было использовано программное обеспечение Power and Sample Size 2020 г. («Sealed Envelope», Великобритания).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обеспеченность витамином D жителей различных регионов Российской Федерации и связь уровня 25(OH)D с инфицированностью SARS-CoV-2 в период пандемии новой коронавирусной инфекции (поперечное исследование по типу «случай-контроль»)

Среди 21506 лиц 41,8% (n=8988) участников имели нормальный уровень 25(OH)D в сыворотке крови, в то время как у большинства участников наблюдалась низкая обеспеченность витамином D: недостаточность отмечалась у 35,1% (n=7542), дефицит витамина D – у 23,1% (n=4976), тяжелый дефицит – у 1,7% (n=356) (Рисунок 2).

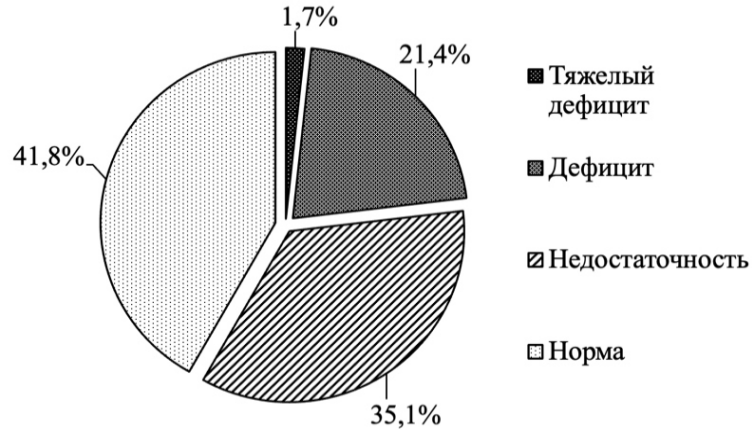


Рисунок 2 – Обеспеченность витамином D жителей Российской Федерации в период пандемии новой коронавирусной инфекции

Встречаемость недостаточности и дефицита витамина D не отличалась от географического региона проживания обследованных. Также не было получено различий по встречаемости недостаточности и дефицита витамина D у участников в возрасте от 18 до 74 лет, в то время как лица старше 75 лет чаще имели дефицит.

Значения 25(OH)D всех обследуемых были сопоставлены с результатами ПЦР-тестов на SARS-CoV-2. Из 21506 тестов хотя бы один положительный результат был выявлен у 3193 участников, а у 18313 обследованных результаты теста были отрицательными. Медиана 25(OH)D в сыворотке крови была аналогичной как у лиц с положительным результатом ПЦР-теста на SARS-CoV-2 (27,29 [20,49;36,68] нг/мл), так и у участников с отрицательным (27,43 [20,55;37,41] нг/мл), $p > 0,05$. Проведенный статистический анализ не выявил ассоциации между количеством лиц, инфицированных SARS-CoV-2, и уровнем 25(OH)D в сыворотке крови (Рисунок 3).

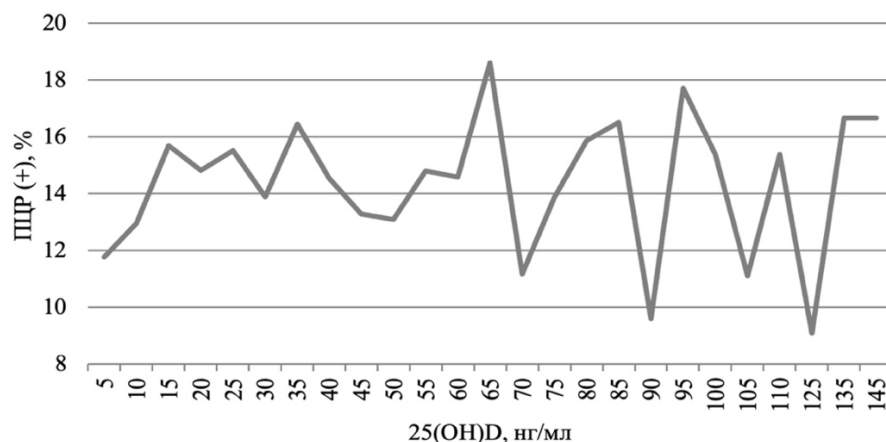


Рисунок 3 – Процент положительных ПЦР-тестов на SARS-CoV-2 на фоне разных значений 25(OH)D в сыворотке крови

Примечание – ПЦР (+) – положительный результат ПЦР-теста на SARS-CoV-2, 25(OH)D – 25-гидроксивитамин D

Количество положительных ПЦР-тестов при концентрации 25(OH)D ниже 20 нг/мл составило 14,8% из 4976 тестов, при концентрации в диапазоне от 20 до 30 нг/мл – 14,9% из 7542 тестов, при значениях более 30 нг/мл – 14,9% из 8988 тестов.

Таким образом, в период пандемии НКВИ обнаружена высокая встречаемость недостаточности и дефицита витамина D у жителей различных ФО РФ, наиболее часто дефицит витамина D наблюдался у лиц старше 75 лет. При этом различий в обеспеченности витамином D среди жителей РФ, инфицированных и неинфицированных SARS-CoV-2, выявлено не было.

Уровень 25(OH)D в сыворотке крови у больных, госпитализированных в инфекционный стационар с разной степенью тяжести COVID-19, и вклад дефицита витамина D в течение и прогноз новой коронавирусной инфекции

Среди 311 пациентов (150 женщин, 161 мужчина) в возрасте от 18 до 75 лет, госпитализированных с диагнозом COVID-19 в инфекционное отделение, 10 (3%) больных имели легкую степень тяжести заболевания, 173 (56%) – среднетяжелое течение, 128 (41%) – тяжелую форму. Пациенты с тяжелым течением COVID-19 были старше, чем пациенты со среднетяжелым – 66 [58;75] и 59 [51;68] лет соответственно ($p<0,001$), и имели большую распространенность хронических заболеваний в виде ожирения, сахарного диабета, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, хронической болезни почек, а также более высокие показатели СРБ, ферритина, ЛДГ, глюкозы и D-димера ($p<0,05$). При этом абсолютное число лимфоцитов было значительно ниже, а НЛС было значительно выше в группе с тяжелым течением COVID-19 ($p<0,05$).

Исходный уровень 25(OH)D в сыворотке был ниже у участников с тяжелым течением заболевания по сравнению с больными со среднетяжелым течением, медиана 25(OH)D в данных группах составила 14,8 [8,3;21,3] нг/мл и 18,9 [10,2;33,3] нг/мл соответственно ($p=0,001$). В зависимости от исходного уровня 25(OH)D в сыворотке крови больные были распределены на группы. У 69 пациентов концентрация 25(OH)D в сыворотке крови была в пределах нормальных значений, у 57 больных наблюдалась недостаточность, у 185 – дефицит, включая 102 пациента с тяжелым дефицитом (<10 нг/мл) (Рисунок 4).

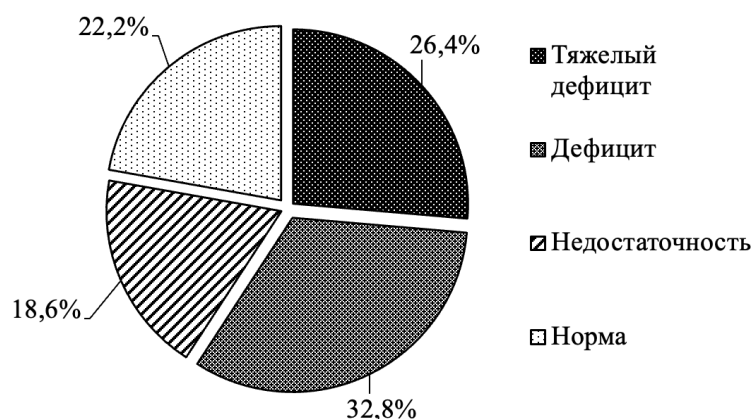


Рисунок 4 – Обеспеченность витамином D больных COVID-19, госпитализированных в инфекционный стационар с разной степенью тяжести

Таким образом, у больных COVID-19 наблюдается большая встречаемость недостаточности/дефицита витамина D, чем в общей популяции. В Таблице 1 представлена характеристика больных в зависимости от обеспеченности витамином D.

Таблица 1 – Общая клиническая характеристика пациентов в зависимости от обеспеченности витамином D

Параметры	Обеспеченность витамином D		p
	Норма (n=69)	Недостаточность/дефицит (n=242)	
Обеспеченность витамином D, n (%)			
<i>Норма</i>	69 (100)	-	-
<i>Недостаточность</i>	-	58 (23,9)	
<i>Дефицит</i>	-	184 (76)	
<i>Тяжелый дефицит</i>	-	102 (42)	
Возраст, лет, Me + IQR [25;75]	58 [47;68]	64 [55;72]	0,002
Пол, женский, n (%)	37 (53,6)	120 (49,6)	0,55
ИМТ, кг/м ² , Me + IQR [25; 75]	28,1 [25,1;31,9]	29,5 [25,7;33,2]	0,13
Ожирение, n (%)	22 (31,8)	103 (42,6)	0,27
СД, n (%)	22 (31,8)	82 (33,8)	0,70
АГ, n (%)	48 (69,6)	192 (79,3)	0,08
ИБС, n (%)	19 (27,5)	87 (35,9)	0,19
ХБП, n (%)	5 (7,2)	29 (11,9)	0,26
Степень тяжести, n (%)			
<i>Легкая</i>	7 (10,2)	3 (1,3)	
<i>Средняя</i>	56 (81,1)	117 (48,3)	<0,001
<i>Тяжелая</i>	6 (8,7)	122 (50,4)	
Количество дней от появления первых симптомов COVID-19 до госпитализации, дни, Me + IQR [25;75]	7 [4;10]	8 [6;11]	0,05
Койко-дни, Me + IQR [25; 75]	14 [8,5;19]	17 [13;23]	0,002
Госпитализация в ОРИТ, n (%)	9 (13)	97 (40,1)	0,001
Исход госпитализации, n (%)			
<i>Выписаны</i>	66 (95,6)	191 (78,9)	0,001
<i>Умерли</i>	3 (4,4)	51 (21,1)	
Терапия, n (%)			
<i>Дексаметазон</i>	44 (63,7)	194 (80,2)	0,07
<i>Преднизолон</i>	8 (11,5)	48 (19,8)	0,09
<i>Фавипиравир</i>	8 (11,5)	15 (6,2)	0,05
<i>Тоцилизумаб</i>	18 (26,0)	72 (29,7)	0,42
<i>Антибиотики</i>	11 (15,9)	94 (38,8)	0,04
Примечание – ИМТ – индекс массы тела, СД – сахарный диабет, АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХБП – хроническая болезнь почек, ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии, Me – медиана, IQR – межквартильный размах			

Пациентов из группы дефицита/недостаточности витамина D отличал больший возраст по сравнению с пациентами с нормальной обеспеченностью витамином D – 64 [55;72] и 58 [47;68] соответственно (p=0,002), более тяжелое течение COVID-19 (p<0,001), большее количество летальных исходов (p=0,001), большая продолжительность стационарного лечения (p=0,002) и более высокая частота госпитализации в ОРИТ (p=0,001). При этом анализ встречаемости хронических заболеваний (ожирение, сахарный диабет, артериальная гипертензия и хроническая болезнь почек) не обнаружил различий между группами с нормальной и низкой обеспеченностью витамином D. Дополнительно проведенная оценка характера медикаментозной терапии за время госпитализации не выявила различий в частоте применения ГКС, антагонистов рецептора IL-6 и противовирусных препаратов в обеих группах.

В группе больных с недостаточностью/дефицитом витамина D НЛС было значимо выше, чем в группе с нормальным уровнем 25(OH)D ($p < 0,05$). При этом уровни нейтрофилов и лимфоцитов в обеих группах значимо не отличались. Также, больные COVID-19 с недостаточностью/дефицитом витамина D на момент госпитализации имели более высокие уровни глюкозы и D-димера ($p < 0,05$). Кроме того, были выявлены значимые отличия среди маркеров воспаления: исходный уровень СРБ составил 79,7 мг/л [32,5;146,7] у больных с недостаточностью/дефицитом витамина D и 28,3 мг/л [7,6;62,5] у больных с нормальным уровнем 25(OH)D в сыворотке крови ($p < 0,001$). Концентрация ферритина и ЛДГ были выше в группе больных с недостаточностью/дефицитом витамина D – 627 нг/мл [289;1155] и 449 Ед/л [316;609] соответственно, по сравнению с группой с нормальной обеспеченностью – 411 нг/мл [183;786] и 331 Ед/л [239;455] соответственно. По данным МСКТ ОГК объем поражения легких был больше у пациентов с недостаточностью или дефицитом витамина D и в среднем составил 48% [35;70], по сравнению с пациентами с нормальным уровнем 25(OH)D в сыворотке крови, у которых процент поражения легких в среднем был 15 [5;25] ($p < 0,05$).

Результаты корреляционного анализа выявили отрицательную связь между уровнем 25(OH)D в сыворотке крови и возрастом больных ($r = -0,244$, $p = 0,001$), исходными значениями ЛДГ ($r = -0,221$, $p = 0,001$), D-димера ($r = -0,228$, $p = 0,001$) и объемом поражения легких ($r = -0,171$, $p = 0,005$).

По данным ROC-анализа пороговый уровень 25(OH)D, ассоциированный с летальным исходом, составил $\leq 11,4$ нг/мл (AUC area=0,81, чувствительность 76%, специфичность 77%, $p = 0,003$) (Рисунок 5А), пороговый уровень 25(OH)D, ассоциированный с тяжелым течением – $\leq 11,7$ нг/мл (AUC area=0,69; чувствительность 76%, специфичность 54%, $p = 0,01$) (Рисунок 5Б).

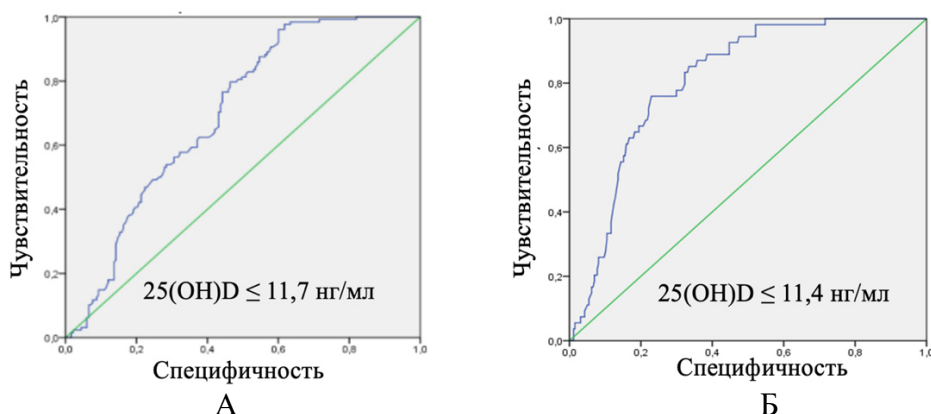


Рисунок 5 – Результаты ROC-анализа

Примечание – Результаты ROC-анализа: А – пороговый уровень 25(OH)D, ассоциированный с тяжелым течением, Б – пороговый уровень 25(OH)D, ассоциированный с летальным исходом

Множественный логистический регрессионный анализ выявил в качестве значимых факторов риска и независимых предикторов тяжелого течения и летального исхода COVID-19 уровень 25(OH)D в сыворотке крови $\leq 11,4$ нг/мл (ОШ 2,39 (95% ДИ: 1,41-4,07), $p < 0,001$ и 3,81 (95% ДИ: 1,81-8,01), $p = 0,001$ соответственно), среди предикторов тяжелого течения – возраст более 60 лет (ОШ 1,38 (95% ДИ: 1,18-1,74)) и наличие ожирения (ОШ 2,34 (95% ДИ: 1,56-3,71)) ($p < 0,05$). При этом, дефицит витамина D оставался значимым фактором при проведении коррекции на возраст и сопутствующую патологию.

Влияние терапии колекальциферолом в дозе 100 000 МЕ на клинические, биохимические и иммунологические параметры у больных COVID-19

В открытое интервенционное рандомизированное исследование включены 129 больных средней и тяжелой степени тяжести (Таблица 2).

Таблица 2 – Исходные клинические, лабораторные и инструментальные данные больных COVID-19, включенных в интервенционное исследование

Параметры	Группа I (n=65)	Группа II (n=64)	p
Возраст, годы, Me + IQR [25;75]	58 [52;66]	64 [55;70]	0,03
Пол, женщины, n (%)	31 (47,7)	32 (50,0)	0,86
ИМТ, кг/м ² , Me + IQR [25;75]	29,5 [25,5;32,9]	28,9 [25,5;31,4]	0,41
Ожирение, n (%)	28 (43,1)	22 (34,9)	0,43
СД, n (%)	17 (26,2)	24 (38,1)	0,84
АГ, n (%)	46 (70,8)	49 (76,6)	0,31
ИБС, n (%)	16 (24,6)	14 (21,9)	0,12
ХБП, n (%)	5 (7,8)	7 (10,9)	0,19
Количество дней от появления первых симптомов COVID-19 до госпитализации, дни, Me + IQR [25;75]	8 [6;10]	8 [6;10]	0,37
SpO ₂ , %, Me + IQR [25;75]	95 [92;97]	95 [92;97]	0,51
Оксигенотерапия, n (%)	38 (58,4)	32 (50)	0,35
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л, Me + IQR [25;75]	4,5 [2,4;7,1]	4,2 [2,9;5,9]	0,80
Лимфоциты, 10 ⁹ /л, Me + IQR [25;75]	1,3 [0,8;1,5]	1,1 [0,7;1,4]	0,25
НЛС, Me + IQR [25;75]	3,7 [2,2;6,3]	4,3 [2,8;7,8]	0,15
СРБ, мг/л, Me + IQR [25;75]	48,7 [21,1;134,1]	49,8 [18,0;107,0]	0,73
Ферритин, нг/мл, Me + IQR [25;75]	610 [243;610]	446 [238;826]	0,12
ЛДГ, Ед/л, Me + IQR [25;75]	351 [261;483]	328 [265;495]	0,80
25(ОН)D, нг/мл, Me + IQR [25;75]	17,8 [11,7;25,4]	15,4 [11,0;22,9]	0,47
Объем поражения легких, %, Me + IQR [25;75]	39 [30;50]	30 [20;45]	0,06
Примечание – ИМТ – индекс массы тела, СД – сахарный диабет, АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, НЛС – нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение, СРБ – С-реактивный белок, ЛДГ – лактатдегидрогеназа, 25(ОН)D – 25-гидроксивитамин D, МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография, Me – медиана, IQR – межквартильный размах			

Обе группы были сопоставимы и значимо не отличались по исходным параметрам за исключением возраста (больные Группы I были моложе, чем больные Группы II: 58 [51;66] лет и 64 [55;70] года соответственно (p=0,03)). Характер основной терапии COVID-19 в исследуемых группах не отличался. Аналогичное количество больных получали терапию дексаметазоном (p=0,97) и/или преднизолоном (p=0,79), а среднесуточные дозы дексаметазона составили 20 [14;32] и 24 [12;32], преднизолона – 240 [203;243] и 210 [150;240] в Группе I и Группе II соответственно (p>0,05). Также, в сопоставимом проценте случаев больные обеих групп имели терапию препаратами из группы антагонистов рецептора IL-6. Исходный уровень 25(ОН)D в сыворотке крови был одинаковый в обеих группах и в среднем составил 17,8 [11,7;25,4] нг/мл у больных Группы I и 15,4 [11,0;22,9] нг/мл у участников Группы II (p=0,47). У больных Группы I концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови была в пределах нормы в 9 случаях (13,8%), недостаточный уровень определялся у 20 пациентов (30,8%), дефицит – у 36 (55,4%). В Группе II нормальный уровень 25(ОН)D наблюдался у 10 больных (15,6%), а недостаточность и дефицит у 11 (17,2%) и 43 (67,2%) соответственно.

На девятый день госпитализации в зависимости от терапии колекальциферолом был выполнен сравнительный анализ клинических и лабораторных показателей в динамике (Таблица 3).

Таблица 3 – Характеристика лабораторных и клинических показателей больных COVID-19 на девятый день госпитализации

Параметры	Группа I (n=65)	Группа II (n=64)	p
Степень тяжести, n (%)			
<i>Средняя степень</i>	52 (80)	51 (79,7)	0,97
<i>Тяжелая степень</i>	13 (20)	13 (20,3)	
Количество койко-дней, дни, Me + IQR [25;75]	18 [14;22]	17 [14;21]	0,92
Частота переводов в ОРИТ, n (%)	1 (1,5)	4 (6,3)	0,17
Исход, n (%)			
<i>Выписано</i>	65 (100)	64 (100)	0,93
<i>Летальные исходы</i>	0	0	
SpO ₂ , %, Me + IQR [25; 75]	97 [96;98]	97 [96;98]	0,93
Оксигенотерапия, n (%)	31 (47,7)	31 (48,4)	0,93
Нейтрофилы, x10 ⁹ /L, Me + IQR [25;75]	8,6 [4,9;10,4]	6,6 [5,2;8,6]	0,06
Лимфоциты, x10 ⁹ /L, Me + IQR [25;75]	1,9 [1,3;2,6]	1,6 [1,05;2,1]	0,06
НЛС, Me + IQR [25;75]	4,5 [2,4;7,1]	4,6 [2,5;7,0]	0,84
СРБ, мг/л, Me + IQR [25; 75]	2,4 [1,0;5,0]	3,5 [1,5;9,6]	0,06
25(ОН)D, нг/мл, Me + IQR [25;75]	24,1 [18,4;32,5]	12,3 [8,6;18,4]	<0,001
Δ25(ОН)D, нг/мл, Me + IQR [25; 75]	5,1 [1,6;10,9]	-2,6 [-4,6;0]	<0,001
Обеспеченность витамином D, n (%)			
<i>Норма</i>	22 (33,8)	8 (12,5)	<0,001
<i>Недостаточность</i>	20 (30,8)	5 (7,8)	
<i>Дефицит</i>	23 (35,4)	51 (79,7)	
Примечание – СРБ – С-реактивный белок, НЛС – нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение, 25(ОН)D – 25-гидроксивитамин D, Δ25(ОН)D – изменение 25-гидроксивитамина D, Me – медиана, IQR – межквартильный размах			

В группе насыщающей терапии колекальциферолом наблюдалось увеличение 25(ОН)D в сыворотке до 24,1 [18,4;32,5] нг/мл с приростом медианы на 5,1 [1,6;10,9] нг/мл. В то же время, у больных Группы II при отсутствии терапии колекальциферолом наблюдалось снижение уровня 25(ОН)D в сыворотке крови в среднем на -2,6 [-4,6;0] нг/мл и к девятому дню госпитализации медиана составила 12,3 [8,6;18,4] нг/мл. В Группе I отмечалось увеличение количества лиц, достигших нормальный уровень обеспеченности витамином D (n=22, 33,8%), с уменьшением доли участников с недостаточностью и дефицитом до 66,2%. Напротив, в Группе II к девятому дню госпитализации наблюдался значимый рост больных с диагностированным дефицитом витамина D (n=51, 79,7%) и снижение числа лиц с нормальной обеспеченностью (n=8, 12,5%) и недостаточностью (n=5, 7,8%). Таким образом, на девятый день госпитализации были выявлены значимые различия между группами по обеспеченности витамином D, уровню 25(ОН)D в сыворотке крови, а также Δ25(ОН)D (p<0,001).

Независимо от терапии колекальциферолом и динамики 25(ОН)D в сыворотке крови не было выявлено разницы в степени тяжести, длительности госпитализации, частоте госпитализации в ОРИТ, а также лабораторным параметрам при сравнении двух групп больных. Корреляционный анализ показал наличие положительной связи между уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови и абсолютным количеством лимфоцитов (r=0,261, p=0,003) и отрицательной связи с показателем НЛС (r=-0,209, p=0,02) на девятый день госпитализации. Дополнительно, была выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнем 25(ОН)D и длительностью госпитализации (r=-0,205, p=0,02).

Влияние терапии колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ на клинические и лабораторные параметры у больных COVID-19 с исходной недостаточностью и дефицитом витамина D

Дополнительно был проведен анализ с исключением данных 19 больных COVID-19 с исходно нормальным уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови. Обе группы так же оставались

сопоставимыми и не имели существенных различий в исходных параметрах, включая уровень 25(ОН)D, показатели КАК и маркеров воспаления. Сравнительный анализ клинических и лабораторных показателей в динамике на девятый день госпитализации в зависимости от характера терапии колекальциферолом у больных с исходной недостаточностью и дефицитом витамина D представлен в Таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика лабораторных и клинических показателей больных COVID-19 с исходными недостаточностью и дефицитом витамина D на девятый день госпитализации

Параметры	Группа I (n=56)	Группа II (n=54)	p
Степень тяжести, n (%)			
Средняя степень	45 (80,4)	41 (75,9)	0,78
Тяжелая степень	11 (19,6)	13 (24,1)	
Количество койко-дней, дни, Ме + IQR [25; 75]	18 [14;22]	17 [14;23]	0,97
Частота переводов в ОРИТ, n (%)	0	3 (6)	0,08
Исход, n (%)			
Выписано	56 (100)	54 (100)	0,93
Летальные исходы	0	0	
SpO ₂ , %, Ме + IQR [25; 75]	97 [96;98]	97 [96;98]	0,56
Оксигенотерапия, n (%)	27 (48)	28 (52)	0,70
Нейтрофилы, x10 ⁹ /L, Ме + IQR [25;75]	8,6 [5,17;10,6]	4,3 [2,9;5,8]	0,047
Лимфоциты, x10 ⁹ /L, Ме + IQR [25;75]	1,9 [1,3;2,6]	1,0 [0,7;1,3]	0,03
НЛС, Ме + IQR [25;75]	4,5 [2,6;7,0]	4,7 [2,6;7,3]	0,71
СРБ, мг/л, Ме + IQR [25; 75]	2,0 [0,8;4,7]	3,6 [1,5;9,2]	0,03
25(ОН)D, нг/мл, Ме + IQR [25;75]	22,8 [17,7;27,7]	10,6 [8,4;14,9]	<0,001
Δ25(ОН)D, нг/мл, Ме + IQR [25; 75]	6,2 [2,4;11]	-2,6 [-4,3;0]	<0,001

Примечание – 25(ОН)D – 25-гидроксивитамин D, СРБ – С-реактивный белок, НЛС – нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение, Ме – медиана, IQR – межквартильный размах

На девятый день после приема 100 000 МЕ колекальциферола в Группе I средний уровень 25(ОН)D в сыворотке крови составил 22,8 нг/мл [17,7;27,7], при этом медиана 25(ОН)D возросла на 6,2 нг/мл [2,4;11] или 40,7% [14,0;78,4]. В то же время, на девятые сутки в отсутствие дополнительного приема колекальциферола в Группе II наблюдалась отрицательная динамика, а именно медиана показателя 25(ОН)D в сыворотке крови снизилась на 2,6 нг/мл [-4,3;0] или 18,2% [-28,8;0] и составила 10,6 [8,4;14,9] нг/мл (Рисунок 6).

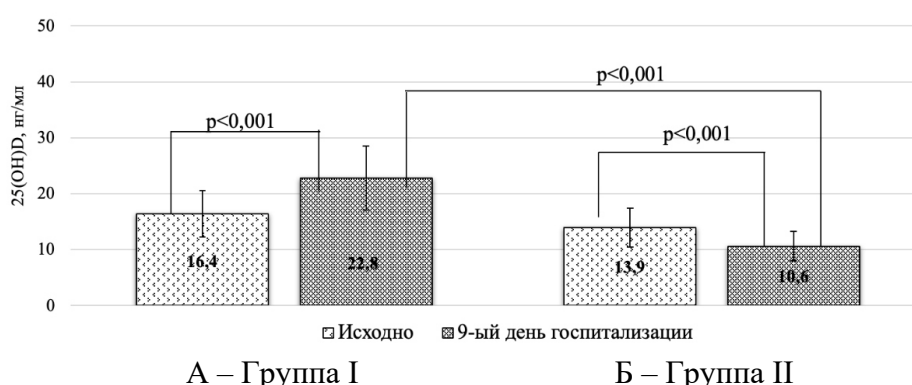


Рисунок 6 – Исходный уровень 25(ОН)D и в динамике на девятый день госпитализации в зависимости от характера терапии колекальциферолом: А – динамика уровня 25(ОН)D в сыворотке крови в Группе I, Б – динамика уровня 25(ОН)D в сыворотке крови в Группе II

К девятому дню госпитализации у 13 (23,2%) больных из Группы I наблюдалась нормальная обеспеченность витамином D, у 20 (35,7%) больных уровень 25(ОН)D соответствовал недостаточности, а у 23 (41,1%) – дефициту. В Группе II нормальный уровень 25(ОН)D был достигнут только у 1 человека, у 3 (6%) больных наблюдалась недостаточность, а у 50 (92%) имел место дефицит витамина D (p<0,001).

После исключения больных с исходно нормальным уровнем 25(OH)D, длительность госпитализации, тяжесть течения COVID-19, летальность и частота переводов в ОРИТ не отличались в обеих группах ($p > 0,05$). Результаты корреляционного анализа подтвердили существование ассоциации между уровнем 25(OH)D в сыворотке на девятый день и длительностью госпитализации ($r = -0,23$, $p = 0,006$).

Были выявлены значимые различия в уровне нейтрофилов и лимфоцитов, а также значении СРБ. В Группе I обнаружены значимо более высокие уровни нейтрофилов и лимфоцитов ($p = 0,047$ и $p = 0,025$ соответственно) (Рисунок 7). Также, отмечалось более значимое снижение уровня СРБ у больных, получавших колекальциферол в дозе 100 000 МЕ в дополнение к стандартной терапии ($p = 0,03$). Корреляционный анализ выявил наличие отрицательной связи между уровнем 25(OH)D и значением СРБ на девятый день госпитализации ($r = -0,280$, $p = 0,02$).

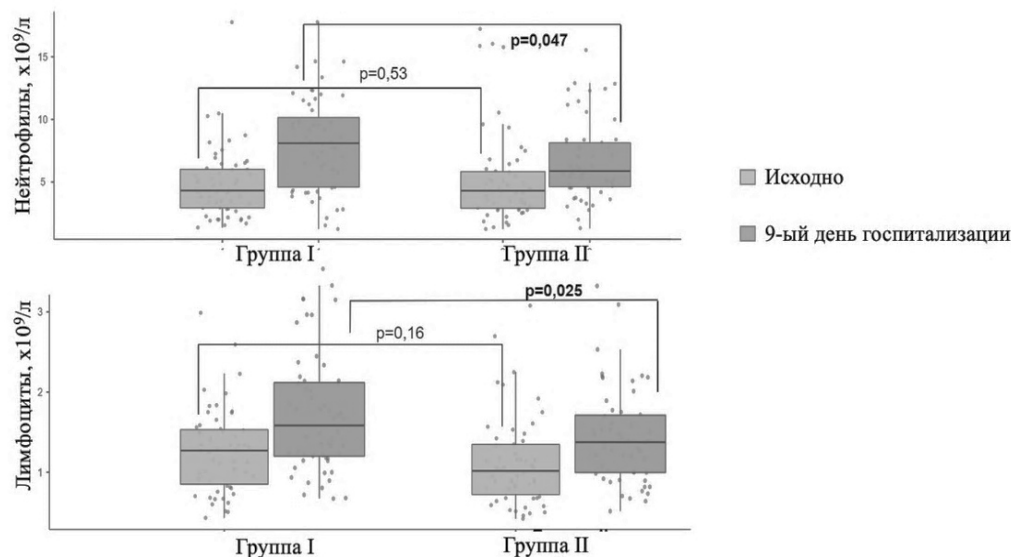


Рисунок 7 – Значения нейтрофилов и лимфоцитов исходно и в динамике на девятый день госпитализации в зависимости от характера терапии колекальциферолом

Таким образом, добавление колекальциферола в суммарной дозе 100 000 МЕ в остром периоде COVID-19 у госпитализированных в инфекционный стационар больных средней и тяжелой степени тяжести с исходными недостаточностью/дефицитом витамина D приводило к увеличению уровня 25(OH)D, а также более значимому приросту абсолютного количества нейтрофилов и лимфоцитов и снижению уровня СРБ.

Влияние терапии колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ на уровень кальцитриола и иммунологические параметры у больных COVID-19

Из выше представленных групп больных, включенных в интервенционное исследование, выбраны по 22 пациента (Группа Ia и Группа IIa), сопоставимых по исходным клинико-лабораторным данным, инструментальным параметрам и характеру основной терапии COVID-19. Значения 1,25(OH)₂D были сопоставлены с концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови на первый и девятый дни госпитализации (Таблица 5).

Таблица 5 – Значения 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови на первый и девятый дни госпитализации

Параметры	Группа Ia (n=22)	Группа IIa (n=22)	p
<i>Показатели на первый день госпитализации</i>			
Обеспеченность витамином D, n (%)			
<i>Норма</i>	5 (22,7)	2 (9)	0,13
<i>Недостаточность</i>	1 (4,5)	0 (0)	
<i>Дефицит</i>	16 (72,7)	20 (91)	
25(OH)D, нг/мл, Me + IQR [25;75]	17,1 [9,83;24,9]	12,9 [8,2;17,4]	0,19
1,25(OH) ₂ D, пг/мл, Me + IQR [25;75]	1158 [649;1455]	1127 [665;1390]	0,71

Продолжение Таблицы 5

Параметры	Группа Ia (n=22)	Группа IIa (n=22)	p
<i>Показатели на девятый день госпитализации</i>			
Обеспеченность витамином D, n (%)			
<i>Норма</i>	8 (36,4)	2 (9)	<0,001
<i>Недостаточность</i>	7 (31,8)	0 (0)	
<i>Дефицит</i>	7 (31,8)	20 (91)	
25(OH)D, нг/мл, Me + IQR [25;75]	24,5 [18,9;34,2]	9,2 [6,4;13,3]	<0,001
1,25(OH) ₂ D, пг/мл, Me + IQR [25;75]	1333 [1111;1779]	1506 [1137;1750]	0,96
<i>Динамика показателей 25(OH)D и 1,25(OH)₂D</i>			
Δ 25(OH)D, %	45,8 [16,9;98,4]	-17,9 [-27,9;0]	<0,001
Δ 1,25(OH) ₂ D, %	18,6 [3,12;39,3]	13,0 [4,48;28,3]	0,74
Примечание – 25(OH)D – 25-гидроксивитамин D, 1,25(OH) ₂ D – 1,25-дигидроксивитамин D, Me – медиана, IQR – межквартильный размах			

Анализ исходных значений 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови показал сопоставимые результаты в обеих группах. Несмотря на болюсную терапию колекальциферолом и положительную динамику (+45,8%) 25(OH)D в сыворотке крови у больных Группы Ia на девятый день госпитализации, уровень 1,25(OH)₂D не отличался от данного показателя больных Группы IIa. Парное сравнение значений на первый и девятый дни госпитализации выявило, что на фоне терапии колекальциферолом наблюдалось повышение как уровня 25(OH)D ($p < 0,001$), так и 1,25(OH)₂D к девятому дню госпитализации ($p < 0,001$). При этом, у больных Группы IIa, несмотря на отсутствие терапии колекальциферолом и отрицательную динамику уровня 25(OH)D в сыворотке крови на девятый день госпитализации (-17,9%), также отмечалось увеличение концентрации 1,25(OH)₂D ($p < 0,001$). Корреляционный анализ показал значимую ассоциацию между показателем 25(OH)D в первый и девятый дни госпитализации ($r = 0,759$; $p < 0,001$), а также между 1,25(OH)₂D в первый и девятый дни госпитализации ($r = 0,569$; $p < 0,001$). Однако, значимых ассоциаций уровня 25(OH)D с 1,25(OH)₂D за период госпитализации получено не было. Таким образом, концентрация активного метаболита витамина D – 1,25(OH)₂D, у больных с НКВИ увеличивалась независимо от приема колекальциферола.

Дополнительно, в первый день госпитализации у 44 больных был выполнен анализ уровня цитокинов в зависимости от обеспеченности витамином D. Исходный уровень всех проанализированных цитокинов не отличался у лиц с нормальной обеспеченностью и с недостаточностью/дефицитом витамина D ($p > 0,05$). Была выявлена положительная корреляционная связь между уровнем 25(OH)D в сыворотке крови и концентрацией IL-10 ($r = 0,360$, $p = 0,02$), а также между уровнем 1,25(OH)₂D и концентрацией GM-CSF ($r = 0,427$, $p = 0,006$), IFN γ ($r = 0,339$, $p = 0,03$), IL-5 ($r = 0,391$, $p = 0,01$), IL-17A ($r = 0,369$, $p = 0,02$).

В дальнейшем была выполнена оценка динамики уровней цитокинов на фоне болюсной терапии колекальциферолом. Исходный уровень цитокинов был сопоставимым в обеих группах. На девятый день госпитализации наблюдалось значимое снижение концентрации IL-10, MIP-3a и TNF- α в Группе IIa, в Группе Ia было отмечено увеличение уровня IL-23 ($p < 0,05$). В обеих группах наблюдалось снижение показателей IL-6 и IL-8. При этом, при сравнении исследуемых групп значимых отличий в вышеуказанных параметрах к девятому дню госпитализации получено не было. В то же время, на девятый день госпитализации были получены значимые отличия в уровне IL-1b, который в Группе Ia составил 2,22 [1,96;2,41], а в Группе IIa 1,79 [1,58;2,00] ($p = 0,04$) (Рисунок 8).

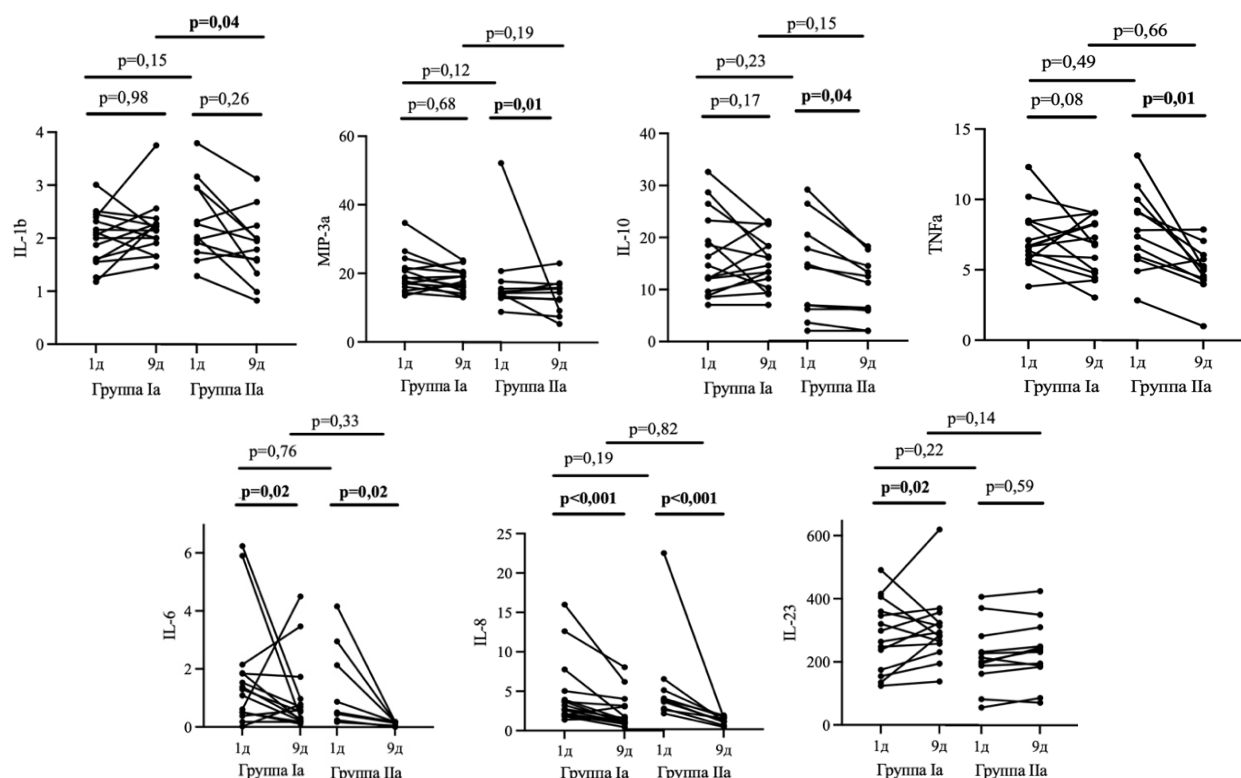


Рисунок 8 – Динамика цитокинового профиля на фоне терапии колекальциферолом
 Примечание – IL-1b – интерлейкин-1бета, MIP-3a – макрофагальный белок воспаления 3a, IL-10 – интерлейкин-10, TNF α – фактор некроза опухоли-альфа, IL-6 – интерлейкин-6, IL-8 – интерлейкин-8, IL-23 – интерлейкин-23

Таким образом, добавление к терапии колекальциферола в дозе 100 000 МЕ не влияло на большинство исследуемых цитокинов за исключением провоспалительного маркера – IL-1b, концентрация которого была ниже в группе больных без терапии витамином D.

Заключение

Таким образом, в период пандемии COVID-19 результаты поперечного исследования выявили высокую встречаемость недостаточности и дефицита витамина D у жителей различных регионов РФ. В то же время, проведенный статистический анализ не подтвердил наличие вклада низкого уровня 25(OH)D в увеличении риска инфицированности SARS-CoV-2. При анализе концентрации 25(OH)D у госпитализированных в инфекционный стационар больных COVID-19 разной степени тяжести выявлено преобладание низкой обеспеченности витамином D, а именно, у 78,8% пациентов диагностированы недостаточность/дефицит, а более чем у 25% – тяжелый дефицит. Результаты исследования позволили установить зависимость между обеспеченностью витамином D, тяжестью течения и прогнозом НКВИ у больных COVID-19, и в качестве независимого предиктора тяжелого течения и летального исхода определить значение 25(OH)D в сыворотке крови $\leq 11,4$ нг/мл.

В свою очередь, результаты интервенционного исследования продемонстрировали эффективность применения колекальциферола в дозе 100 000 МЕ в виде увеличения концентрации 25(OH)D на 41% к девятому дню госпитализации, в то же время, отсутствие данной терапии было связано с прогрессирующим снижением 25(OH)D. Несмотря на прирост концентрации 25(OH)D на фоне болюсной терапии колекальциферолом, при анализе активного метаболита витамина D – 1,25(OH) $_2$ D, не было получено данных о связи с концентрацией 25(OH)D. Однако, независимо от лечения колекальциферолом у всех больных наблюдалось повышение концентрации 1,25(OH) $_2$ D, что не исключает влияния самого инфекционного процесса и терапии ГКС на метаболизм витамин D и может указывать на вовлеченность витамина D в иммунный ответ у больных COVID-19. В связи с этим, низкий уровень 25(OH)D

может рассматриваться как дополнительный фактор, принимающий участие в иммунном ответе при COVID-19, что обуславливает целесообразность его своевременного определения у больных COVID-19.

Изучая патогенетические механизмы, лежащие в основе тяжести НКВИ, была продемонстрирована связь между уровнем 25(OH)D и более высокими значениями воспалительных маркеров и объемом поражения легких. Однако, терапия колекальциферолом в дозе 100 000 МЕ не влияла на течение и исходы при НКВИ, но приводила к более значимому повышению лимфоцитов и нейтрофилов, а также снижению уровня СРБ. Несмотря на изменение лабораторных показателей, обеспеченность витамином D, как и терапия колекальциферолом, не имели значимого влияния на уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

В настоящее время НКВИ входит в перечень ОРВИ, в связи с чем наши результаты могут быть в некоторой степени приемлемы и для больных с тяжелыми проявлениями респираторных вирусных инфекций в виде цитокинового шторма и острого респираторного дистресс-синдрома.

Выводы

1. В период пандемии новой коронавирусной инфекции сохраняется высокая встречаемость недостаточности и дефицита витамина D у жителей различных регионов Российской Федерации. Низкий уровень 25(OH)D в сыворотке крови не ассоциирован с риском инфицированности SARS-CoV-2 в популяции.
2. У госпитализированных больных с COVID-19 уровень обеспеченности витамином D ниже, чем в общей популяции. Концентрация 1,25(OH)₂D в сыворотке крови не зависит от уровня обеспеченности витамином D. Недостаточность и дефицит витамина D сопровождаются более тяжелым течением, большей длительностью госпитализации и частотой перевода в отделение реанимации и интенсивной терапии.
3. Дефицит витамина D у больных COVID-19 ассоциирован с более высокими показателями С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, ферритина и большим объемом поражения легких, и не связан с уровнем цитокинов. Уровень 25(OH)D в сыворотке крови $\leq 11,7$ нг/мл и $\leq 11,4$ нг/мл увеличивает риск тяжелого течения и летального исхода COVID-19.
4. Терапия колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ в остром периоде COVID-19 у госпитализированных в инфекционный стационар больных средней и тяжелой степени тяжести приводит к увеличению концентрации 25(OH)D, однако не оказывает влияния на уровень 1,25(OH)₂D.
5. У больных с исходными недостаточностью и дефицитом витамина D терапия колекальциферолом в суммарной дозе 100 000 МЕ ассоциирована с более высоким значением нейтрофилов и лимфоцитов, а также более низким уровнем С-реактивного белка по сравнению с больными, в комплексную терапию которых не входит витамин D. Наблюдаемые изменения в цитокиновом профиле в острый период COVID-19 связаны с основной терапией заболевания, а не с болюсным приемом колекальциферола.

Практические рекомендации

У больных новой коронавирусной инфекцией целесообразно определение 25(OH)D в сыворотке крови с целью диагностики недостаточности и дефицита витамина D, поскольку дефицит витамина D является фактором риска тяжелого течения и летального исхода COVID-19.

В комплексную терапию больных COVID-19 с недостаточностью и дефицитом витамина D при госпитализации в инфекционный стационар рекомендовано включать колекальциферол в суммарной дозе 100 000 МЕ с целью быстрого повышения уровня 25(OH)D в сыворотке крови. В то же время, с учетом отсутствия влияния данной терапии на течение и прогноз заболевания, коррекция дефицита витамина D с нормализацией уровня 25(OH)D в сыворотке крови должна проводиться заблаговременно на догоспитальном этапе.

Перспективы дальнейшей разработки темы

В настоящей работе установлена роль низкой обеспеченности витамином D в ухудшении течения новой коронавирусной инфекции и обоснована необходимость своевременной коррекции недостаточности и дефицита витамина D у больных COVID-19. С учетом отсутствия влияния терапии колекальциферолом в дозе 100 000 МЕ на течение и исходы COVID-19 у больных среднетяжелого и тяжелого течения необходимо проведение дальнейших исследований с применением более высоких доз витамина D, в том числе у больных крайне тяжелого течения, проходящих лечение в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии.

Принимая во внимание известные негативные последствия для организма перенесенной новой коронавирусной инфекции, целесообразно планирование и проведение исследований для уточнения влияния терапии витамином D на течение пост-ковидного периода, включая состояние иммунного ответа, а также развитие нарушений со стороны эндокринной, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Дополнительно, учитывая общие для респираторных вирусных инфекций механизмы участия витамина D в иммунном ответе, целесообразным будет дальнейшее изучение эффективности терапии колекальциферолом при других острых респираторных заболеваниях, сопровождающихся явлениями цитокинового шторма.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Эндокринные аспекты COVID-19 инфекции: фокус на витамин D / Каронова Т.Л., Головатюк К.А., Андреева А.Т. [и др.] // Трансляционная медицина. – 2020. – С. 933-940.
2. Витамин D как фактор повышения иммунитета и снижения риска развития острых респираторных вирусных инфекций и COVID-19 / Каронова Т.Л., Вашукова М.А., Гусев Д.А., Головатюк К.А., Гринева Е.Н. // Артериальная гипертензия. – 2020. – Т. 26, № 3. – С. 295-303.
3. Эндокринная система витамин-гормон D и COVID-19 / Каронова Т.Л., Головатюк К.А., Андреева А.Т. [и др.] // Терапия. – 2020. – Т.8. – С. 105-112.
4. Инфицированность SARS-CoV-2 в зависимости от уровня обеспеченности витамином D / Каронова Т.Л., Андреева А.Т., Головатюк К.А. [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2021. Т. 67, № 5. – С. 20-28.
5. Возможности применения колекальциферола в комплексной терапии в остром периоде COVID-19 / Головатюк К.А., Каронова Т.Л., Михайлова А.А. [и др.] // Профилактическая медицина. – 2022. Т. 25, № 12. – С. 95–102.
6. Параметры метаболизма витамина D у госпитализированных больных в острый период COVID-19 / Михайлова А.А., Головатюк К.А., Лагутина Д.И. [и др.] // Трансляционная медицина. – 2023. Т. 10, № 2. – С. 69-76.
7. Влияние терапии колекальциферолом на течение COVID-19 у больных, госпитализированных в инфекционный стационар / Михайлова А.А., Лагутина Д.И., Головатюк К.А. // Эндокринология: новости, мнения, обучение. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 119-121.
8. Low 25(OH)D level is associated with Severe Course and Poor Prognosis in COVID-19 / Karonova T.L., Andreeva A.T., Golovatuk K.A. [et al.] // Nutrients. – 2021. Vol. 13. – P. 3021.
9. Vitamin D Status and Immune Response in Hospitalized Patients with Moderate and Severe COVID-19 / Karonova T.L., Kudryavtsev I.V., Golovatyuk K.A. [et al.] // Pharmaceuticals. – 2022. Vol. 15. – P. 305.
10. Effect of Cholecalciferol Supplementation on the Clinical Features and Inflammatory Markers in Hospitalized COVID-19 Patients: A Randomized, Open-Label, Single-Center Study / Karonova T.L., Golovatyuk K.A., Kudryavtsev I.V. [et al.] // Nutrients. – 2022. Vol. 14. – P. 2602.
11. Vitamin D Intake May Reduce SARS-CoV-2 Infection Morbidity in Health Care Workers / Karonova T.L., Chernikova A.T., Golovatyuk K.A. [et al.] // Nutrients. – 2022. Vol. 14. – P. 505.

12. 100 лет витамину D. Уровень обеспеченности витамином D в пандемию новой коронавирусной инфекции / Головатюк К.А., Лагутина Д.И., Михайлова А.А., [и др.] // Российский журнал персонализированной медицины. – 2022. – Т. 2, № 6, С. 33-41.
13. Обеспеченность населения витамином D в период пандемии COVID-19: опыт России и Беларуси / Каронова Т.Л., Руденко Е.В., Радаева О.А., Черникова А.Т., Головатюк К.А. [и др.]. // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2022. Т. 19, №4. – С. 424-432.

Список сокращений

- 1,25(OH)₂D – 1,25-дигидроксивитамин D
 25(OH)D – 25-гидроксивитамин D
 СРБ – С-реактивный белок
 GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)
 IFN-γ – interferon-gamma (интерферон-гамма)
 IL – interleukin (интерлейкин)
 MIP-3α – macrophage inflammatory protein 3 alpha (макрофагальный белок воспаления 3 альфа)
 TNF-α – tumor necrosis factor-alpha (фактор некроза опухоли-альфа)
 АГ – артериальная гипертензия
 ГКС – глюкокортикостероиды
 ИБС – ишемическая болезнь сердца
 ИМТ – индекс массы тела
 КАК – клинический анализ крови
 ЛДГ – лактатдегидрогеназа
 МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
 НКВИ – новая коронавирусная инфекция
 НЛС – нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение
 ОГК – органы грудной клетки
 ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
 ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
 ПЦР – метод полимеразной цепной реакции
 РФ – Российская Федерация
 СД – сахарный диабет
 ФО – федеральный округ
 ХБП – хроническая болезнь почек