



Прогнозирование выживаемости госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией: роль определения активности хитотриозидазы в периферической крови

Е.С. Шелкановцева^{✉1}, Г.О. Исаев¹, О.Ю. Миронова¹, А.А. Балахонов¹, А.В. Скворцов², И.О. Нагорнов³, А.Ю. Суворов¹, В.В. Фомин¹, А.С. Панферов¹

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

³ФГБУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва, Россия

Аннотация

Цель. Оценить связь между активностью хитотриозидазы (ХТЗ) плазмы крови и летальностью от новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы. В проспективном когортном наблюдательном одноцентровом исследовании приняли участие 347 человек, госпитализированных с диагнозом новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. В дополнение к стандартному обследованию в день госпитализации этим пациентам определялась активность ХТЗ в периферической крови. Первичной конечной точкой являлась смерть от любых причин. Выживаемость после выписки из стационара оценивалась с помощью телефонного интервью на 90 и 180-й день от момента включения в исследование (NCT04752085).

Результаты. В исследование включены 347 пациентов. Срок от появления первых симптомов до госпитализации составил 7 [5; 7] дней. На момент включения в исследование у 283 (84,3%) пациентов объем поражения легочной ткани составлял менее 50% (0–2 степень по компьютерной томографии). За период наблюдения умерли 36 (10,4%) пациентов, 30 (83,3%) из них скончались в первые 30 дней наблюдения, остальные – не позже 60-го дня; 68 (19%) человек не ответили на телефонные звонки. Активность ХТЗ на момент госпитализации у выживших больных оказалась достоверно ниже по сравнению с умершими (90,5 [40,2; 178,0] нмоль/ч/мл vs 180,0 [77,2; 393,2] нмоль/ч/мл; $p=0,001$). Выживаемость пациентов с изначально повышенной (более 171 нмоль/ч/мл) активностью ХТЗ оказалась достоверно хуже.

Заключение. Повышение активности ХТЗ более 171 нмоль/ч/мл может служить ранним предиктором неблагоприятного исхода у пациентов, госпитализированных по поводу новой коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: хитотриозидаза, новая коронавирусная инфекция, COVID-19, биомаркеры, летальность, прогноз

Для цитирования: Шелкановцева Е.С., Исаев Г.О., Миронова О.Ю., Балахонов А.А., Скворцов А.В., Нагорнов И.О., Суворов А.Ю., Фомин В.В., Панферов А.С. Прогнозирование выживаемости госпитализированных пациентов с новой коронавирусной инфекцией: роль определения активности хитотриозидазы в периферической крови. Терапевтический архив. 2023;95(7):543–547.
DOI: 10.26442/00403660.2023.07.202280

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]Шелкановцева Екатерина Сергеевна – аспирант каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).
Тел.: +7(963)210-72-31; e-mail: mar-shhelkanovceva@yandex.ru;
ORCID: 0000-0001-9098-4098

Исаев Георгий Олегович – ординатор каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).
ORCID: 0000-0002-4871-8797

Миронова Ольга Юрьевна – канд. мед. наук, проф. каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).
ORCID: 0000-0002-5820-1759

Балахонов Александр Алексеевич – аспирант каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).
ORCID: 0000-0002-1166-9856

Скворцов Алексей Вячеславович – ординатор фак-та фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». ORCID: 0000-0001-8743-5207

Нагорнов Илья Олегович – врач – лабораторный генетик ФГБУ «МГНЦ им. акад. Н.П. Бочкова». ORCID: 0000-0001-9368-1594

Суворов Александр Юрьевич – канд. мед. наук, гл. статистик НЦМУ «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).
ORCID: 0000-0002-2224-0019

[✉]Ekaterina S. Schelkanovtseva.
E-mail: mar-shhelkanovceva@yandex.ru;
ORCID: 0000-0001-9098-4098

Georgiy O. Isaev. ORCID: 0000-0002-4871-8797

Olga Yu. Mironova. ORCID: 0000-0002-5820-1759

Alexander A. Balakhonov. ORCID: 0000-0002-1166-9856

Alexey V. Skvortsov. ORCID: 0000-0001-8743-5207

Ilya O. Nagornov. ORCID: 0000-0001-9368-1594

Aleksandr Yu. Suvorov. ORCID: 0000-0002-2224-0019

The survival prediction of hospitalized patients with COVID-19: the role of chitotriosidase level in peripheral blood

Ekaterina S. Schelkanovtseva^{✉1}, Georgy O. Isaev¹, Olga Yu. Mironova¹, Alexander A. Balakhonov¹, Alexey V. Skvortsov², Ilya O. Nagornov³, Aleksandr Yu. Suvorov¹, Victor V. Fomin¹, Alexandr S. Panferov¹

¹Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

³Bochkov Medical Genetic Research Center, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To assess the relationship between plasma chitotriosidase (CHIT) level and mortality in hospitalized patients with COVID-19.

Materials and methods. 347 hospitalized patients with COVID-19 were enrolled in our single-center cohort prospective observational study. On the first day of hospitalization the patients were assessed by the level of CHIT in the venous blood to addition to default laboratory examinations. The primary endpoint was all-cause death. The survival after hospital discharge were assessed via phone calls on 90 and 180 days since inclusion to the study (NCT04752085).

Results. Our study included 347 patients. The first symptoms appeared in 7 days [5; 7] before hospitalization; 283 (84.3%) patients had less than 50% of the involvement of the lung tissue to the inflammation process (CT 0–2); 36 (10.4%) patients had died since the start of our investigation; 30 (83.3%) of them died during hospitalization, others -no later than 60 days; 68 (19%) people didn't answer during phone call. The survivor's activity of the enzyme in the deceased was significantly lower in compare to deceased patients (90.5 [40.2; 178.0] nmol/h/mL vs 180.0 [77.2; 393.2] nmol/h/mL; $p=0.001$). Survivor of the patients with a higher level of the activity of the CHIT (more than 171 nmol/h/mL) was statically significantly lower.

Conclusion. Rising of the CHIT's activity more than 171 nmol/h/mL might be an early independent predictor of the bad prognosis of the patients, who were hospitalized with COVID-19 infection.

Keywords: chitotriosidase, coronavirus, COVID-19, biomarkers, mortality, prognosis

For citation: Schelkanovtseva ES, Isaev GO, Mironova OYu, Balakhonov AA, Skvortsov AV, Nagornov IO, Suvorov AYU, Fomin VV, Panferov AS. The survival prediction of hospitalized patients with COVID-19: the role of chitotriosidase level in peripheral blood. *Terapevticheskiy Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2023;95(7):543–547. DOI: 10.26442/00403660.2023.07.202280

Введение

С момента объявления Всемирной организацией здравоохранения пандемии прошло 3 года, однако говорить о победе над новой коронавирусной инфекцией преждевременно. Ежедневно в мире продолжают регистрироваться новые случаи заболевания, что во многом может быть связано с неполномасштабным охватом вакцинацией, наличием уязвимых с медицинской точки зрения пациентов, а также с появлением новых штаммов вируса.

Известно, что у большинства пациентов заболевание имеет нетяжелое гриппоподобное течение, у кого-то проходит бессимптомно, но в то же время есть пациенты с тяжелым течением заболевания, требующим применения биологической терапии и респираторной поддержки вплоть до искусственной вентиляции легких (ИВЛ), которое часто заканчивается летальным исходом. Подобное течение болезни часто трудно предсказать на ранних этапах, поэтому поиск предикторов неблагоприятного течения COVID-19 именно в начальной стадии заболевания имеет крайне важное практическое значение.

С учетом ключевой роли гиперактивации иммунной системы вплоть до развития цитокинового шторма в патогенезе именно таких тяжелых форм COVID-19 мы решили изучить связь активности хитотриозидазы (ХТЗ) как одного из маркеров активации макрофагов со смертностью пациентов, госпитализированных по поводу новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы

Одноцентровое когортное проспективное наблюдательное исследование проведено с 1 ноября 2020 по 1 февраля 2021 г. на базе Университетской клиники (ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) в период ее перепрофилирования в инфекционный стационар. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. Исследование зарегистрировано в Clinical Trial Registry под номером NCT04752085.

В исследование в случайном порядке включались пациенты, госпитализированные в Университетскую клинику с диагнозом «Новая коронавирусная инфекция», установленным на основании действующих в тот период рекомендаций [1]. В исследование не включались больные, отказавшиеся подписать добровольное информированное согласие, госпитализировавшиеся ранее по поводу новой коронавирусной инфекции, из исследования исключались пациенты, выписанные из стационара до окончания срока лечения или переведенные в другие учреждения.

Всем включенным в исследование пациентам в первый день поступления в дополнение к стандартному лабораторно-инструментальному обследованию определяли уровень ХТЗ. С этой целью капля венозной крови наносилась на стандартную карточку-фильтр (Greenvan–Biocard) и высушивалась при комнатной температуре. После транспортировки в лабо-

Информация об авторах / Information about the authors

Фомин Виктор Викторович – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-2682-4417

Victor V. Fomin. ORCID: 0000-0002-2682-4417

Панферов Александр Сергеевич – канд. мед. наук, доц. каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). ORCID: 0000-0002-4324-7615

Alexandr S. Panferov. ORCID: 0000-0002-4324-7615

Таблица 1. Основные характеристики госпитализированных пациентов**Table 1. Main characteristics of hospitalized patients**

Параметр	Выжившие (n=311)	Умершие (n=36)	p
Средний возраст, лет	65,0 [55,0; 74,0]	80,0 [68,8; 82,8]	0,000
Женский пол, абс. (%)	172 (52,6)	12 (40,0)	0,258
Индекс массы тела, кг/м ²	28,7 [25,5; 32,3]	28,3 [26,6; 33,3]	0,335
Артериальная гипертензия, абс. (%)	207 (63,3)	24 (80,0)	0,103
Ишемическая болезнь сердца, абс. (%)	30 (9,2)	6 (20,0)	0,117
Сахарный диабет, абс. (%)	52 (15,9)	10 (33,3)	0,031
Бронхиальная астма, абс. (%)	17 (5,2)	3 (10,0)	0,230
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
Объем поражения легких менее 50%, абс. (%)	283 (91)	18 (50)	0,010
Стадия КТ 3–4, абс. (%)	44 (13,4)	12 (40)	0,010
Лимфоциты, тыс./мкл	1,6 [1,1; 2,0]	1,1 [0,8; 1,3]	0,001
Протромбиновое время, с	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]	0,000
Активность ХТЗ, нмоль/ч/мл	90,5 [40,2; 178,0]	180,0 [77,2; 393,2]	0,001
Потребность в НИВЛ/ИВЛ, абс. (%)	15 (4,6)	22 (73,3)	0,000
Использование ГИБТ, абс. (%)	125 (38,6)	17 (56,7)	0,082

Примечание. Данные выражены в процентах или медиане [межквартильный размах], КТ – компьютерная томография, НИВЛ – неинвазивная вентиляция легких, ГИБТ – генно-инженерные биологические препараты.

раторию ФГБУ «МГНЦ им. акад. Н.П. Бочкова» активность ХТЗ определялась флуориметрическим методом с использованием синтетического субстрата 4-метилумбеллиферил-три-N-ацетил-β-хитотриозид. Образец экстрагировался из пятна диаметром 3,2 мм 0,25 М ацетатом натрия (рН 5,5) в течение 60 мин на шейкере-инкубаторе ST-3L (Elmi, Латвия) при 37°C, 900 об/мин. К 10 мкл экстракта добавляли 50 мкл 0,02 мМ 4-метилумбеллиферил-три-N-ацетил-β-хитотриозид в 0,1/0,2 М цитрат-фосфатном буфере рН 5,2. Ферментная реакция проводилась в шейкере-инкубаторе ST-3L (Elmi, Латвия) в течение 30 мин при 37°C, 500 об/мин. Реакция

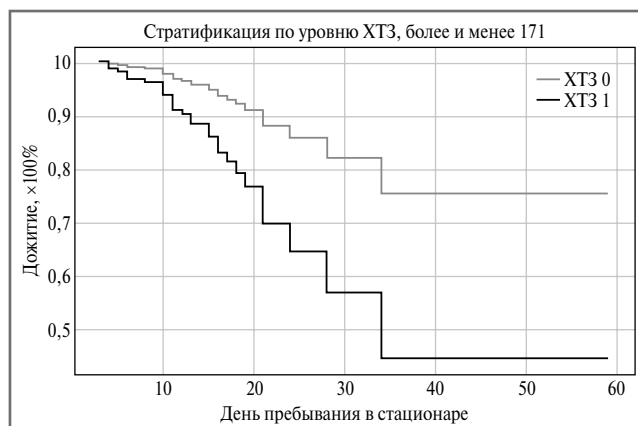


Рис. 1. Кривая Каплана–Мейера, показывающая выживаемость пациентов с коронавирусной инфекцией с уровнем ХТЗ выше порогового значения 171 нмоль/мл/ч. Примечание. ХТЗ 0 – ХТЗ < 171 нмоль/ч/мл, ХТЗ 1 – ХТЗ ≥ 171 нмоль/ч/мл.

Fig. 1. The Kaplan–Meyer curve shows the survival rate of patients with coronavirus infection with a chitinase level above the 171 nmol/ml/h threshold.

останавливалась 250 мкл 0,4 М глицин-карбонатным буфером рН 10,3. Интенсивность флуоресценции определялась с помощью ридера PE EnSpire (Perkin Elmer, США). Активность ХТЗ рассчитывалась как нМ 4-метилумбеллиферина, высвобожденного в ходе ферментной реакции из 4-метилумбеллиферил-три-N-ацетил-β-хитотриозид, на мл в час. Концентрацию 4-метилумбеллиферина получали путем построения калибровочной кривой.

О достижении первичной конечной точки – смерти от любых причин – судили по исходам госпитализации, выписанных больных интервьюировали по телефону на 90 и 180-й дни от включения в исследование.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Python v.3.8.12 (Anaconda distribution). Установленная статистическая значимость оказалась на уровне 0,05. В нашем исследовании для определения функции выживания использовалась оценка Каплана–Мейера.

Результаты

В исследование включены 347 пациентов. За период наблюдения умерли 36 (10,4%) человек; 30 (83,3%) из них скончались в первые 30 дней наблюдения, остальные – не позже 90-го дня. Основные характеристики пациентов представлены в сводной таблице (табл. 1).

Активность ХТЗ сыворотки у выживших оказалась значительно ниже, чем у умерших (90,5 [40,2; 178,0] нмоль/ч/мл против 180,0 [77,2; 393,2] нмоль/ч/мл; $p=0,001$). Выживаемость пациентов с исходным уровнем ХТЗ выше 171 нг/ч/мл оказалась значительно хуже, особенно в первые 30 дней наблюдения (рис. 1).

Обсуждение

ХТЗ относится к группе хитиназ, гидролитических ферментов, которые ответственны за метаболизирование хитина, синтезируется активированными макрофагами в ответ на возбуждение хитиновых рецепторов медиаторами воспаления (интерлейкин – ИЛ-17, 18, 23, фактор некроза опухоли α) [2–4]. Фермент активно экспрессируется иммунными клетками легких и кишечника [4]. Доказано, что уровень ХТЗ повышен при многих хронических заболеваниях

ниях, в том числе саркоидозе, хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астме, воспалительных заболеваний кишечника [4–8].

В экспериментах на мышах показано, что существует отрицательная обратная связь между уровнем ХТЗ в бронхо-альвеолярном лаваже и прогрессированием инфекции, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, а генетически модифицированные мыши без гена ХТЗ демонстрируют лучшую выживаемость и меньшую бактериальную диссеминацию в крови и селезенке по сравнению с мышами с диким генотипом [8]. В ходе изучения новой коронавирусной инфекции выделен ряд прогностических маркеров, в частности ферритин [9], альбумин [10], однако эти данные противоречивы [11, 12]. На сегодняшний день нет убедительных данных, что тот или иной маркер может достоверно говорить о прогнозе у пациентов с коронавирусной инфекцией. В нашем исследовании впервые показано, что повышение активности ХТЗ сопровождается ухудшением выживаемости пациентов с COVID-19. То обстоятельство, что в наше исследование включены пациенты на ранней стадии заболевания (около 7 дней от появления первых симптомов) и большинство из них (283; 81,5%) на момент включения в исследование имели поражение менее 50% объема легочной ткани, позволяет рассматривать ХТЗ именно как ранний прогностический маркер. Поскольку большинство смертей в нашем исследовании наступило в течение месяца, этот маркер отражает краткосрочный прогноз. Умершие пациенты оказались старше и изначально в более тяжелом состоянии (о чем можно судить по достоверным различиям в уровнях лимфоцитов, креатинина, протромбинового индекса, С-реактивного белка, а также в объеме поражения легочной ткани и баллам по шкале NEWS), что, безусловно, также имело прогностическое значение, и это следует учитывать при планировании дальнейших исследований, направленных на уточнение прогностического значения определения активности ХТЗ у пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Заключение

Использование ХТЗ в качестве раннего предиктора неблагоприятного исхода у пациентов с новой коронавирусной инфекцией требует проведения более масштабных исследований, так как потенциально может помочь клиницистам правильно стратифицировать пациентов и рационализировать тактику их лечения.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Источник финансирования. А.Ю. Суворов финансировался Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» (грант №075-15-2020-926).

Funding source. Aleksandr Yu. Suvorov was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of state support for the creation and development of World-Class Research Centers “Digital biodesign and personalized healthcare” (Grant №075-15-2020-926).

Список сокращений

ИВЛ – искусственная вентиляция легких
ИЛ – интерлейкин

ХТЗ – хитотриозидаса

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции 2019-nCoV». Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2021; версия 12. Режим доступа: <https://base.garant.ru/400738625/> Ссылка активна на 09.08.2022 [«Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection 2019-nCoV». Interim methodological recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2021; version 12. Available at: <https://base.garant.ru/400738625/> Accessed: 09.08.2022 (in Russian)].
2. Gooday GW. Aggressive and defensive roles for chitinases. *EXS*. 1999;87:157-69. DOI:10.1007/978-3-0348-8757-1_11
3. Lee CG, Da Silva CA, Cruz CSD, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Ann Rev Physiol*. 2011;73:1. DOI:0.1146/ANNUREV-PHYSIOL-012110-142250
4. Kanneganti M, Kamba A, Mizoguchi E. Role of chitotriosidase (chitinase 1) under normal and disease conditions. *J Epithel Biol Pharmacol*. 2012;5:1. DOI:10.2174/1875044301205010001
5. Chang D, Sharma L, Cruz CSD. Chitotriosidase: a marker and modulator of lung disease. *Eur Respir Rev*. 2020;29:156. DOI:10.1183/16000617.0143-2019
6. Sharma L, Amick AK, Vasudevan S, et al. Regulation and role of chitotriosidase during lung infection with *Klebsiella pneumoniae*. *J Immunol*. 2018;201(2):615-26. DOI:10.4049/JIMMUNOL.1701782/-/DCSUPPLEMENTAL
7. Bennett D, Cameli P, Lanzarone N, et al. Chitotriosidase: a biomarker of activity and severity in patients with sarcoidosis. *Respir Res*. 2020;21(1):1-12. DOI:10.1186/s12931-019-1263-z
8. Mazur M, Zielińska A, Grzybowski M, et al. Chitinases and Chitinase-Like Proteins as Therapeutic Targets in Inflammatory Diseases, with a Special Focus on Inflammatory Bowel Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6966. DOI:10.3390/IJMS22136966
9. Cakır G, Gumus S, Ucar E, et al. Serum chitotriosidase activity in pulmonary tuberculosis: response to treatment and correlations with clinical parameters. *Ann Lab Med*. 2012;32(3):184-9. DOI:10.3343/ALM.2012.32.3.184
10. Kernan K, Carcillo J. Hyperferritinemia and inflammation. *Int Immunol*. 2017;29(9):401-9. DOI:10.1093/INTIMM/DXX031
11. Feld J, Tremblay D, Thibaud S, et al. Ferritin levels in patients with COVID-19: A poor predictor of mortality and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Lab Hematol*. 2020;42(6):773-9. DOI:10.1111/IJLH.13309
12. Violi F, Cangemi R, Romiti GF, et al. Is Albumin Predictor of Mortality in COVID-19? *Antioxid Redox Signal*. 2021;35(2):139-42. DOI:10.1089/ARS.2020.8142

Статья поступила в редакцию / The article received: 09.08.2022

