

НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БЕЛКОВЫХ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ

Михаил Иванович ВОЕВОДА^{1,2,3,4}, Юлия Игоревна РАГИНО¹,
Константин Юрьевич НИКОЛАЕВ^{1,4}, Ольга Сергеевна ХАРЛАМОВА¹,
Екатерина Михайловна СТАХНЁВА¹, Елена Владимировна КАШТАНОВА¹,
Яна Владимировна ПОЛОНСКАЯ¹, Динара Евгеньевна ИВАНОЩУК^{1,3},
Маргарита Витальевна КРУЧИНИНА^{1,5}, Владимир Николаевич КРУЧИНИН⁶

¹ НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

⁴ Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

⁵ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

⁶ Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 13

Целью настоящего исследования явилась оценка ассоциаций белков легочного сурфактанта А (SP-A) и D (SP-D) с тяжестью внебольничных пневмоний. **Материал и методы.** Проведено обследование 188 пациентов с диагнозом «внебольничная пневмония» (ВП). Средний возраст больных составил $54,3 \pm 16,5$ года ($M \pm SD$). У 102 человек (54,3 %) верифицирована тяжелая ВП. Всем пациентам проведены клиническое, функционально-диагностическое и лабораторное исследование. **Результаты и их обсуждение.** Уровень SP-A и SP-D был существенно выше у пациентов с тяжелой ВП по сравнению с больными нетяжелого течения этого заболевания. Подтверждена выявленная в ранних исследованиях прямая ассоциация тяжелого течения ВП с повышенным содержанием SP-A, прямо связанная с увеличением концентрации С-реактивного белка в крови и скоростью оседания эритроцитов. С помощью парциального корреляционного анализа установлено, что тяжелое течение ВП прямо связано с содержанием SP-A ($r = 0,221$; $p = 0,003$) и SP-D ($r = 0,262$; $p < 0,001$) независимо от возраста, курения и массы тела. Таким образом, прямые ассоциации SP-A и SP-D с тяжелым течением ВП отражают высокую значимость этих защитных факторов при инфекционном поражении легких и могут быть использованы впоследствии для оценки степени тяжести заболевания.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, тяжелая пневмония, белки легочного сурфактанта А и D, сыворотка крови, парциальный корреляционный анализ.

Конфликт интересов. Авторы статьи декларируют, что не имеют конфликта интересов, связанных с материалами данной статьи.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания по интеграционному проекту (0324-2018-0040) «Разработка новых способов экспресс-диагностики заболеваний человека на основе детекции органоспецифических маркеров с помощью современных физических и физико-химических подходов».

Автор для переписки: Кручинина М.В., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Для цитирования: Воевода М.И., Рагино Ю.И., Николаев К.Ю., Харламова О.С., Стахнёва Е.М., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Иванощук Д.Е., Кручинина М.В., Кручинин В.Н. Новые аспекты использования белковых тканеспецифических маркеров в оценке степени тяжести внебольничных пневмоний. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019; 39 (4): 93–98. doi: 10.15372/SSMJ20190412.

NEW ASPECTS OF THE USE OF PROTEIN TISSUE-SPECIFIC MARKERS IN THE ESTIMATION OF SEVERITY OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Mikhail Ivanovich VOEVODA^{1,2,3,4}, Yuliya Igorevna RAGINO¹,
Konstantin Yuryevich NIKOLAEV^{1,4}, Olga Sergeevna KHARLAMOVA¹,
Ekaterina Mikhaylovna STAKHNEVA¹, Elena Vladimirovna KASHTANOVA¹,
Yana Vladimirovna POLONSKAYA¹, Dinara Evgenyevna IVANOSHCHUK^{1,3},
Margarita Vitalyevna KRUCHININA^{1,5}, Vladimir Nikolaevich KRUCHININ⁶

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

² Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

³ The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 10

⁴ Novosibirsk State University
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2

⁵ Novosibirsk State Medical University
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

⁶ Rzhanov Institute of Semiconductor Physics of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 13

The purpose of the study was to assess the associations of proteins of pulmonary surfactants A (SP-A) and D (SP-D) with the severity of community-acquired pneumonia. **Material and methods.** A survey of 188 patients diagnosed with community-acquired pneumonia (CAP). The average age of the examined patients was 54.3 ± 16.5 years ($M \pm SD$). In 102 patients (54.3 %) severe CAP was verified. All patients underwent clinical, functional, diagnostic and laboratory studies. **Results and discussion.** It was determined that SP-A and SP-D content was significantly higher in patients with severe CAP compared to patients with a mild course of this disease. The direct association of severe CAP with an elevated SP-AP level, directly associated with an increase in the concentration of C-reactive protein in the blood and erythrocyte sedimentation rate, have been confirmed in early studies. Using partial correlation analysis, it was established that the severe course of CAP is directly related to SP-A ($r = 0.221$; $p = 0.003$) and SP-D content ($r = 0.262$; $p < 0.001$) regardless of age, smoking, and body weight. Thus, direct associations of SP-A and SP-D with a severe course of CAP reflect the high pathogenetic significance of these protective factors in infectious lung damage.

Key words: community-acquired pneumonia, severe pneumonia, pulmonary surfactant proteins A and D, blood serum, partial correlation analysis.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Kruchinina M.V., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Citation: Voevoda M.I., Ragino Yu.I., Nikolayev K.Yu., Kharlamova O.S., Stakhneva E.M., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Ivanoshchuk D.E., Kruchinina M.V., Kruchinin V.N. New aspects of the use of protein tissue-specific markers in the estimation of severity of community-acquired pneumonia. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (4): 93–98. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190412.

Известно, что смертность от внебольничных пневмоний (ВП) у лиц молодого и среднего возраста без сопутствующих заболеваний составляет 1–3 %, у пациентов старше 60 лет при тяжелом течении пневмонии и наличии сопутствующих заболеваний – 15–30 %. В России смертность

от пневмонии остается высокой. Этому способствуют климатические факторы, невысокая доступность медицинской помощи, обусловленная значительными расстояниями от населенных пунктов до центров специализированной медицинской помощи, а также недооценка степени

тяжести ВП [2]. В связи с этим изучение новых маркеров тяжести ВП является актуальным направлением в современной пульмонологии.

Известно, что белки легочного сурфактанта А (SP-A) и D (SP-D) синтезируются альвеолоцитами и участвуют в патогенезе различных клинических состояний с воспалением слизистых оболочек дыхательных путей, а также паренхимы легких [8]. В настоящее время установлена целесообразность изучения эффективности применения SP-A и SP-D в качестве специфических маркеров воспалительных заболеваний легких [1]. При этом исследования, посвященные оценке связей SP-A и SP-D с клиническими характеристиками пневмоний, единичны [12].

Целью настоящего исследования явилась оценка ассоциаций SP-A и SP-D с тяжестью ВП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 188 пациентов (102 мужчины (54,3 %) и 86 женщин (45,7 %)), поступивших в Городскую клиническую больницу № 25 г. Новосибирска с диагнозом ВП, установленным согласно диагностическим критериям Российского респираторного общества 2010 г. [5]. Средний возраст больных составил $54,3 \pm 16,5$ года ($M \pm SD$). У 103 пациентов (54,8 %) верифицирована тяжелая ВП в соответствии с «Клиническими рекомендациями по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых» 2014 г.

[4]: при выраженной дыхательной недостаточности, при наличии признаков сепсиса и органной дисфункции, также в случае высокого риска летального исхода и необходимости госпитализации больного в отделение интенсивной терапии, а также при высокой вероятности декомпенсации сопутствующей патологии. Всем пациентам помимо сбора анамнеза и рутинного физикального обследования (табл. 1) проводилась обзорная рентгенография органов грудной полости в передней прямой проекции (по показаниям – также и в боковой), пульсоксиметрия, развернутый общий анализ крови, биохимический анализ крови. Содержание SP-A и SP-D в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа на микропланшетном фотометре «Multiskan EX» («Thermo Fisher Scientific», США) с использованием тест-систем компании «BioVendor» (Чехия).

Исследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (протокол № 15 от 10.04.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью лицензионного пакета программ SPSS 13.0. Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD) ($M \pm SD$).

Таблица 1

Результаты сопоставления клинических показателей у пациентов с нетяжелой и тяжелой ВП

Table 1

The results of the comparison of clinical indicators in patients with non-severe and severe community-acquired pneumonia

Показатель	Пациенты с нетяжелой ВП, $n = 85$	Пациенты с тяжелой ВП, $n = 103$
Возраст, лет	55 ± 16	61 ± 16
Мужской пол	42 (49,4 %)	60 (58,3%)
Курение	13 (15,1 %)	35 (34,3 %)*
Рост, см	$168,1 \pm 9,5$	$168,6 \pm 8,8$
Масса тела, кг	75 (68; 85)	70 (61; 78)
АД систолическое, мм рт. ст.	133 ± 14	130 ± 19
АД диастолическое, мм рт. ст.	80 ± 7	80 ± 9
ЧСС в 1 мин	$90,0 \pm 15,1$	$94,6 \pm 16,3^*$
ЧДД в 1 мин	$19,6 \pm 2,0$	$22,4 \pm 2,6^{**}$
Температура тела, °С	37,6 (36,9; 37,9)	37,9 (37,5; 38,2)**
Сатурация, %	98,3 (98,0; 99,0)	96,7 (96,0; 98,0)*

Примечание. АД – артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЧДД – частота дыхательных движений; здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей пациентов с нетяжелой ВП: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,001$.

При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался *t*-тест Стьюдента. При отсутствии нормального распределения вычислялись медиана (Me), 25 и 75 % процентиля (25 %; 75 %) (Me (25 %; 75 %)) и применялся тест Манна – Уитни. Связи между признаками оценивались с помощью парциального корреляционного анализа. Номинальные данные представлены в виде относительных частот объектов исследования (*n*, %), для оценки их различий использовались критерий χ^2 . Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (*p*) принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты сопоставления клинических характеристик пациентов с нетяжелой и тяжелой ВП. Пациенты с тяжелой ВП были старше, чаще курили, а значения массы тела у них были меньше, чем у больных с нетяжелой ВП. В группе пациентов с тяжелой ВП частота сердечных сокращений, частота дыхательных движений и температура тела были больше, а сатурация крови кислородом – меньше, чем у пациентов с нетяжелой ВП, что напрямую характеризует выраженность повреждения дыхательной системы и находит отражение в критериях тяжести данного заболевания [4].

В табл. 2 отражено сопоставление лабораторных показателей острофазовых реакций (лейкоцитоз, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), содержание С-реактивного белка, фибриногена), маркеров тяжелого течения и необходимости госпитализации в отделение интенсивной терапии (содержание мочевины, креатинина) [4], концен-

трация SP-A и SP-D у пациентов с нетяжелой и тяжелой ВП.

Определено, что содержание лейкоцитов и СОЭ при ВП тяжелой степени достоверно выше, что достаточно давно используется в клинической практике в качестве маркеров тяжелого течения [6]. Мы получили существенно более высокие показатели сыровоточного уровня SP-A и SP-D у пациентов с тяжелой ВП по сравнению с больными нетяжелого течения этого заболевания. В литературе уже показана прямая связь между повышением содержания SP-D и риском развития жизнеугрожающих осложнений и летальности при ВП [7, 9, 10]; в исследовании S. Spoorenberg и соавторов обнаружено, что пациенты с тяжелой ВП имели достоверно более высокий уровень SP-D, чем пациенты с нетяжелой ВП, и установлено, что SP-D является значимым предиктором для долгосрочной смертности [11]. Выявленная прямая ассоциация тяжелого течения ВП с SP-A коррелирует с ранее проведенным нами исследованием, в котором продемонстрировано повышение содержания SP-A у пациентов с пневмонией, прямо связанное с увеличением концентрации СРБ и СОЭ. Вероятно, это обусловлено участием SP-A в патогенезе развития клинических проявлений пневмонии, отражающих активный воспалительный процесс и повреждение паренхимы легких [3].

С помощью парциального корреляционного анализа установлено, что тяжелое течение ВП прямо связано с содержанием SP-A ($r = 0,221$; $p = 0,003$) и SP-D ($r = 0,262$; $p < 0,001$) независимо от возраста, курения и массы тела. Полученные результаты подтверждают важную роль SP-A и SP-D в патогенезе развития внебольничной пневмонии и отражают наличие активного воспали-

Таблица 2

Результаты сопоставления лабораторных показателей у пациентов с нетяжелой и тяжелой ВП

Table 2

The results of the comparison of laboratory parameters in patients with non-severe and severe community-acquired pneumonia

Показатель	Пациенты с нетяжелой ВП, <i>n</i> = 85	Пациенты с тяжелой ВП, <i>n</i> = 103
Содержание лейкоцитов, 10 ⁹ /л	10,4 (8,1; 13,3)	13,3 (9,6; 17,0) **
СОЭ, мм/ч	20,0 (12,0; 30,0)	29,0 (19,0; 40,0) **
Содержание С-реактивного белка, мг/л	12 (0; 24)	24 (12; 48)
Содержание фибриногена, г/л	5,0 (4,1; 6,8)	5,8 (4,4; 7,2)
Содержание креатинина, мкмоль/л	93,6 (80,3; 106,0)	90,4 (80,5; 120,7)
Содержание мочевины, ммоль/л	5,4 (4,3; 7,5)	6,4 (4,8; 8,7)
Содержание SP-A, нг/мл	36,88 (28,79; 46,77)	57,58 (39,70; 92,88) **
Содержание SP-D, нг/мл	273,90 (189,39; 425,66)	411,83 (249,32; 649,88) **

тельного процесса в ответ на чужеродную инвазию легких. SP-A и SP-D могут рассматриваться в качестве новых биомаркеров тяжелой внебольничной пневмонии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, прямые ассоциации SP-A и SP-D с тяжелым течением ВП отражают высокую значимость этих защитных факторов при инфекционном поражении легких, что позволяет рассматривать их как новые биохимические маркеры тяжелой ВП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ковалькова Н.А., Рагино Ю.И., Логвиненко Н.И., Мерекина Е.В., Воевода М.И. Значение сурфактантных белков в диагностике терапевтических заболеваний. *Терапевт. архив*. 2015; (1): 115–119.

Kovalkova N.A., Ragino Yu.I., Logvinenko N.I., Merekina E.V., Voevoda M.I. The value of surfactant proteins in the diagnosis of therapeutic diseases. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*. 2015; (1): 115–119. [In Russian].

2. Круглякова Л.В., Нарышкина С.В. Тяжелая внебольничная пневмония: диагностика и лечение (обзор литературы). *Бюл. физиол. и патол. дыхания*. 2016; (59): 98–108.

Kruglyakova L.V., Naryshkina S.V. Severe community-acquired pneumonia: diagnostics and treatment (review). *Vyulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*. 2016; (59): 98–108 [In Russian].

3. Рагино Ю.И., Николаев К.Ю., Харламова О.С., Стахнева Е.М., Воевода М.И. Ассоциации уровня в крови сурфактантного белка А с клиническими характеристиками пневмонии. *Сиб. науч. мед. журн*. 2017; 37 (5): 16–20.

Ragino Yu.I., Nikolaev K.Yu., Kharlamova O.S., Stakhneva E.M., Voevoda M.I. Associations of blood level of surfactant protein A with the clinical characteristics of pneumonia. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2017; 37 (5): 16–20. [In Russian].

4. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Авдеев С.Н., Тюрин И.Е., Руднов В.А., Рачина С.А., Фесенко О.В. Российское респираторное общество (РРО), Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ). *Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых. Пульмонология*. 2014; (4): 13–48.

Chuchalin A.G., Sinopalnikov A.I., Kozlov R.S., Avdeev S.N., Tyurin I.E., Rudnov V.A., Rachina S.A., Fesenko O.V. Russian Respiratory Society (RRO), Interregional Association for Clinical Microbiology

and Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC). *Clinical recommendations for the diagnosis, treatment and prevention of severe community-acquired pneumonia in adults. Pulmonologiya = Pulmonology*. 2014; (4): 13–48. [In Russian].

5. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике (пособие для врачей). *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия*. 2010; 12 (3): 186–225.

Chuchalin A.G., Sinopalnikov A.I., Kozlov R.S., Tyurin I.E., Rachina S.A. Practical guidelines for the prevention, diagnosis, and treatment of community acquired pneumonia in adults (physician's manual). *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2010; 12 (3): 186–225. [In Russian].

6. Brown J. Community-acquired pneumonia. *Clin. Med*. 2012; 12 (6): 538–543. doi: 10.7861/clinmedicine.12-6-538.

7. Du J., Abdel-Razek O., Shi Q., Hu F., Ding G., Cooney R.N., Wang G. Surfactant protein D attenuates acute lung and kidney injuries in pneumonia-induced sepsis through modulating apoptosis, inflammation and NF-κB signaling. *Sci. Rep*. 2018; 8 (1): 15393.

8. Eisner M.D., Parsons P., Matthay M.A., Ware L., Greene K. Plasma surfactant protein levels and clinical outcomes in patients with acute lung injury. *Thorax*. 2003; 58 (11): 983–988.

9. Garcia-Laorden M.I., Rodriguez de Castro F., Sole-Violan J., Rajas O., Blanquer J., Borderias L., Aspa J., Briones M.L., Saavedra P., Marcos-Ramos J.A., Gonzalez-Quevedo N., Sologuren I., Herrera-Ramos E., Ferrer J.M., Rello J., Rodriguez-Gallego C. Influence of genetic variability at the surfactant proteins A and D in community-acquired pneumonia: a prospective, observational, genetic study. *Crit. Care*. 2011; 15: ID R57. doi: 10.1186/cc10030.

10. Leth-Larsen R., Nordenbaek C., Tornoe I., Moeller V., Schlosser A., Koch C., Teisner B., Junker P., Holmskov U. Surfactant protein D (SP-D) serum levels in patients with community-acquired pneumonia. *Clin. Immunol*. 2003; 108 (1): 29–37. doi: 10.1016/s1521-6616(03)00042-1.

11. Spoorenberg S., Vestjens S., Rijkers G.T., Meek B., van Moorsel C.H., Grutters J.C., Bos W.J. YKL-40, CCL18 and SP-D predict mortality in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Respirology*. 2016; 22 (3): 542–550. doi: 10.1111/resp.12924.

12. Wang L.L., Zheng S.Y., Ren L., Xiao Q.Y., Long X.R., Luo J., Li Q.B., Deng Y., Xie X.H., Liu E.M. Levels of surfactant proteins A and D in bronchoalveolar lavage fluid of children with pneumonia and their relationships with clinical characteristics. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2016; 18 (5): 386–390. [In Chinese].

Сведения об авторах:

Воевода М.И., д.м.н., проф., академик РАН, ORCID 0000-0001-9425-413X

Рагино Ю.И., д.м.н., проф., член-корр. РАН

Николаев К.Ю., д.м.н., ORCID 0000-0003-4601-6203

Харламова О.С.

Стахнёва Е.М., к.б.н.

Каштанова Е.В., д.б.н., ORCID 0000-0003-0780-7723

Полонская Я.В., д.б.н.

Иваношук Д.Е.

Кручинина М.В., д.м.н., ORCID 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Кручинин В.Н., к.х.н., ORCID 0000-0002-9905-9031

Information about authors:

Voevoda M.I., doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, ORCID 0000-0001-9425-413X

Ragino Yu.I., doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS

Nikolaev K.Yu., doctor of medical sciences, ORCID 0000-0003-4601-6203

Kharlamova O.S.

Stakhneva E.M., candidate of biological sciences

Kashtanova E.V., doctor of biological sciences, ORCID 0000-0003-0780-7723

Polonskaya Ya.V., doctor of biological sciences

Ivanoshchuk D.E.

Kruchinina M.V., doctor of medical sciences, ORCID 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Kruchinin V.N., candidate of chemical sciences, ORCID 0000-0002-9905-9031