

О.В. Плеханова

ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ: ВПЛИВ ПРИРОДИ ЗАГОСТРЕННЯ НА РІВЕНЬ ДЕЯКИХ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ МОКРОТИННЯ ТА КРОВІ

Дніпропетровська державна медична академія
кафедра факультетської терапії та ендокринології
(зав. – член-кор. АМН України, д. мед. н., проф. Т.О. Перцева)

Ключові слова: хронічне
обструктивне захворювання
легень, загострення,
антибактеріальна терапія,
молекули середньої маси, трипсин
Key words: chronic obstructive
pulmonary disease, exacerbation,
antibiotic therapy, medium weight
molecules, tripsin

Резюме. Обострения хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) часто служат причиной обращения пациентов за медицинской помощью. Труднее всего, на наш взгляд, в этой ситуации решить вопрос о необходимости антибактериальной терапии (АБТ) у этой категории больных. Целью нашего исследования было определение уровня общего белка, активности трипсина в мокроте, молекул средней массы (МСМ) в мокроте и сыворотке крови, а также уровня альбумина и С-РП в сыворотке пациентов с обострением ХОЗЛ и проанализировать возможность использования этих маркеров для верификации бактериальной этиологии обострения. 32 больных ХОЗЛ в стадии обострения были поделены на 2 группы. Группу 1 составили 11 пациентов (средний возраст – $57,2 \pm 4,1$ года) со II типом обострения по Anthonisen (без гнойной мокроты), группу 2 – 21 пациент (средний возраст – $58,0 \pm 2,4$ года) с I и II (при наличии гнойной мокроты) типами обострения ХОЗЛ. Наличие у пациентов клинических и микробиологических признаков инфекционного обострения ХОЗЛ (группа 2) сопровождалось повышением вязкости мокроты с нарушением ее протеолитической активности, а также повышением уровня маркера эндогенной интоксикации – МСМ – как в мокроте, так и в сыворотке крови. Вероятное увеличение концентрации С-РП и МСМ в сыворотке крови среди пациентов группы 2 в сравнении с пациентами группы 1 ($p < 0,001$) может объясняться более значимой общей эндогенной интоксикацией при обострениях, причиной которых являются инфекционные агенты. Повышение уровня МСМ в сыворотке крови и мокроте на 20-30 % на фоне снижения активности трипсина в мокроте может свидетельствовать об инфекционной природе обострения ХОЗЛ при стертой клинической симптоматике последнего, что позволит рекомендовать включение антибиотиков в схему лечения этой категории больных.

Summary. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) often is a cause of patients' seeking for medical advice. The most difficult, in our opinion, in such a situation is to decide on necessity of antibacterial therapy (ABT) in this category of patients. The aim of our research was to determine total protein level, tripsin activity in sputum, medium weight molecules level in the serum and sputum, albumin and C-RP level in serum of patients with acute exacerbations of COPD and to analyze possibility of these markers for verification of bacterial etiology of exacerbation. 32 pts with AECOPD were divided into two groups: group 1 – 11 pts (mean age – $57,2 \pm 4,1$ yrs) with Anthonisen II type of AECOPD (without purulent sputum) and group 2 – 21 pts (mean age – $58,0 \pm 2,4$ yrs) with Anthonisen I and II types of AECOPD (with purulente sputum). Clinical and microbiological sings of infective exacerbation (group 2) were accompanied by the increase of sputum viscosity with disbalance of proteolytic activity, as well as elevation of level of endogenous intoxication marker – medium weight molecules – both in the sputum and in the serum. A reliable growth of C-RP and MWM serum concentration in patients of the 2-d group versus 1-st group ($p < 0,001$) may be explained by a more evident general endogenous intoxication in case of

exacerbations caused by infectious agents. Augmentation of C-RP level, MWM levels in the serum and sputum by 20-30 % against the background of decrease of tripsin activity in the sputum may testify to infective nature of COPD exacerbation in case of obliterated clinical symptomatology; this enables to recommend ABT for this category of patients.

Загострення хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) часто служать причиною звернень пацієнтів за медичною допомогою [1]. Існуючі документи, що регламентують діагностику й лікування даної нозології, не дають чітких рекомендацій щодо тактики ведення пацієнтів при загостренні патологічного процесу. Найважчим, на наш погляд, у даній ситуації є питання про необхідність антибактеріальної терапії (АБТ). З одного боку, використання антибактеріальних препаратів при неінфекційному загостренні ХОЗЛ не дає бажаного терапевтичного ефекту, сприяючи в майбутньому формуванню резистентних штамів патогенних мікроорганізмів. З іншого боку, відсутність АБТ при наявності інфекційного тригера загострення призводить до підвищення ризику госпіталізації й смертності пацієнтів [1, 5].

Протягом другої половини минулого століття погляди на роль бактеріальної інфекції у патогенезі загострень ХОЗЛ неодноразово змінювалися: від визнання провідної ролі інфекційних агентів у виникненні загострень захворювання («британська гіпотеза») до заперечення причинно-наслідкового зв'язку між ідентифікацією бактерій у секреті дихальних шляхів і посиленням виразності симптомів. На цей час для пояснення патогенезу загострень ХОЗЛ існує гіпотеза «хибного кола», що демонструє зв'язок між періодично зростаючим мікробним навантаженням на дихальні шляхи й посиленням клінічних проявів захворювання [5, 14]. Наслідком постійного запального процесу, що має місце у пацієнтів із ХОЗЛ, є структурні зміни в легенях: фіброз, альвеолярна деструкція, гіперплазія епітелію, гіпертрофія слизових залоз, метаплазія келихоподібних клітин та мукоцільярна дисфункція [12]. Структурні зміни бронхів і порушення місцевого протиінфекційного імунітету створюють умови, коли захисні фактори макроорганізму можуть лише обмежити мікробне навантаження, але не елімінувати патогени, тобто ведуть до формування колонізації бактеріальних агентів на поверхні трахеобронхіального тракту. Поступове підвищення концентрації мікроорганізмів у дихальних шляхах сприяє переходу ХОЗЛ від стадії ремісії до загострення. Посилення запального процесу в дихальних шляхах часто супроводжується системними проявами, маркерами яких можуть

виступати білки гострої фази запалення – С-РП та альбумін [15].

Близько 50–80% загострень ХОЗЛ мають інфекційну природу [1, 5, 14]. Вірусно-бактеріальні асоціації зумовлюють ряд ефектів, що призводять до виділення медіаторів, запуску каскаду запальних реакцій та формування синдрому ендогенної інтоксикації (ЕІ) [6, 9]. Більшість авторів універсальним біохімічним маркером ЕІ, що відображає рівень патологічного білкового метаболізму, вважають молекули середньої маси (МСМ). До них відносять продукти деградації білків із молекулярною масою 300–5000 Д, що утворюються в процесі протеолізу в ушкоджених тканинах, а також у самій плазмі при виході у кров протеолітичних ферментів. У нормі 95% МСМ виділяються, головним чином, шляхом гломерулярної фільтрації. Основна маса останніх розщеплюється, інактивується або частково руйнується всередині проксимальних тубул нирок, і вільні амінокислотні залишки реабсорбуються. Причиною патологічного накопичення МСМ у сироватці крові при ряді захворювань (за умов нормальної гломерулярної фільтрації) є посилене утворення їх за рахунок появи надлишкової кількості афізіологічних метаболітів [6]. МСМ відрізняються високою біологічною активністю. Підвищення їх рівня не тільки є маркером ендогенної інтоксикації, але й потенціює розвиток патологічного процесу за рахунок виконання ролі вторинних токсинів [9]. У ряді досліджень, проведених у хворих із різними патологічними станами, було виявлено підвищення рівня МСМ як у сироватці крові, так і в інших фізіологічних рідинах – сечі, слині та ін. [2-4, 7-10, 16].

Запальний процес у бронхіальному дереві призводить до дисбалансу в системі протеаз-антипротеази та підвищення в'язкості мокротиння, що, з одного боку, пояснюється посиленням судинної проникності й наступним виходом плазматичного альбуміну в просвіт бронхів, з іншого боку – істотним збільшенням локального синтезу білків, зокрема лізоциму. Останній здатний вступати в електростатичні взаємодії з поверхневими групами муцинів, викликаючи при цьому посилення в'язкості секрету дихальних шляхів [12].

Метою нашого дослідження було вивчення рівня загального білка, МСМ та активності трипсину в мокротинні, а також рівня С-РП, альбуміну та МСМ у сироватці крові хворих на ХОЗЛ у період загострення й аналіз можливості їхнього використання для верифікації бактеріального генезу загострення патологічного процесу в даній категорії хворих.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Нами було обстежено 32 хворих на ХОЗЛ II-III стадій у фазу загострення. Залежно від типу загострення пацієнти були розділені на дві групи. Першу групу (група 1) склали 11 хворих (середній вік – $57,2 \pm 4,1$ року) з II (без наявності гнійного мокротиння) типом загострення ХОЗЛ за Anthonisen [17]; другу групу (група 2) – 21 хворий (середній вік – $58,0 \pm 2,4$ року) з I і II (при наявності гнійного мокротиння) типами загострення ХОЗЛ. Пацієнти групи 2 були розділені на підгрупи, в залежності від ідентифікації етіопатогена. У підгрупу 2а увійшли пацієнти з ідентифікованими етіопатогенами загострення, у підгрупу 2б – пацієнти, у яких етіопатогени не були визначені. Діагноз і стадія ХОЗЛ верифікувалися відповідно до критеріїв і рекомендацій Наказу МОЗ України № 128 від 19 березня 2007 року [13].

До включення у дослідження пацієнти не приймали антибактеріальних препаратів.

Усім хворим було проведено клінічне обстеження: аналізувалися скарги, динаміка результатів загальноклінічних і додаткових методів дослідження. Функцію зовнішнього дихання (ФЗД) оцінювали за допомогою комп'ютерного спірографа Master Screen Body/Diff фірми "Jaeger" (Німеччина). Спірографію проводили вранці натще.

Матеріалом для мікробіологічного вивчення було спонтанно експектороване мокротиння. Забір мокротиння здійснювався вранці натще, після ретельної санації ротової порожнини. Зразки мокротиння вважалися репрезентативними, якщо кількість нейтрофільних лейкоцитів перевищувала 25, а кількість епітеліальних клітин становила менше 10 в одному полі зору. Результати дослідження мокротиння вважали діагностично значущими при виявленні потенційного патогена в титрі не нижче 10^6 КУО/мл. Виявлення ДНК *M. pneumoniae* і *S. pneumoniae* у мокротинні проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з гібридизаційно-флюоресцентною детекцією по «кінцевій точці».

Вміст загального білку в мокротинні визначали методом Lowry [18]. Для визначення

концентрації МСМ у мокротинні останнє піддавали депротейнізації з використанням 10 %-ї трихлороцтової кислоти. Надалі проби центрифугували (3000 об/хв.) протягом 30 хвилин. 0,5 мл надосаду переносили у пробірку з 4,5 мл дистильованої води. Рідину перемішували і переносили у вимірювальну кювету. Спектрофотометрію проводили на довжинах хвиль 254 та 280 нм проти дистильованої води в кюветі з довжиною пробігу світлового променя 1 см. Відповідь про вміст МСМ отримували в одиницях, які чисельно дорівнювали коефіцієнтам екстинції [11]. При визначенні вмісту МСМ у крові досліджувані проби центрифугували протягом 10 хвилин при 3000 об/хв. До 1 мл освітленого субстрату додавали 10 %-й розчин трихлороцтової кислоти. Подальший аналіз проб відповідав процедурам, що здійснювали для мокротиння.

Стан протеолітичної системи мокротиння вивчали за активністю трипсину з використанням як субстрату бензоіл-аргінін-п-нітроаніліну. Спектрофотометричні вимірювання активності здійснювали на довжині хвилі 540 нм. Активність виражали в нмоль/с · л у перерахунку на 1 г загального білку.

Концентрацію С-РП у сироватці крові визначали імунотурбідиметричним методом при довжині хвилі – 340 нм. Контроль якості проведеного дослідження здійснюється з використанням контрольної сироватки Bio-Rad Liquichek Immunology Control методом контрольних карт (норма: 1–10 г/л).

Рівень альбуміну в сироватці крові визначався з використанням бромкрезолового зеленого при довжині хвилі – 545 нм. Контроль якості проведеного дослідження здійснюється з використанням контрольної сироватки Serodos та Serodos Plus методом контрольних карт (норма: 38–53 г/л).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На момент обстеження у всіх пацієнтів відзначалися симптоми загострення ХОЗЛ: посилення задишки, кашлю, збільшення продукції мокротиння.

Згідно з даними мікроскопії, у пацієнтів групи 1 мокротиння мало слизовий характер, у пацієнтів групи 2 – слизово-гнійний або гнійний. У всіх пацієнтів другої групи мокротиння було визнано презентативним, однак етіологічний патоген було визначено тільки у 13 (57,1%) випадках. Усього було виділено 16 штамів мікроорганізмів (табл. 1).

Таблиця 1

Спектр патогенів під час загострення ХОЗЛ

Мікроорганізм	Абсолютна кількість	%
<i>H. influenzae</i>	8	50,0
<i>S. pneumoniae</i>	4	25,0
<i>H. parainfluenzae</i>	2	12,5
<i>Ps.aeruginosae</i>	1	6,25
<i>Serratia marcescens</i>	1	6,25
<i>M. pneumoniae</i>	0	0
<i>C. pneumoniae</i>	0	0

Мікробні асоціації спостерігалися у 4 (25,0%) пацієнтів і були представлені у трьох випадках *H. influenzae* та *S. pneumoniae*, в одному – *Ps. aeruginosa* та *S. pneumoniae*.

За даними біохімічного дослідження мокротиння, рівень МСМ у пацієнтів групи 2 був

вірогідно вищим (на 33,2 %), ніж у хворих групи 1 (табл. 2), що може свідчити про більш виразну локальну запальну реакцію в трахеобронхіальному дереві, з посиленням місцевої ендогенної інтоксикації.

Таблиця 2

Показники рівнів загального білку, МСМ та активності трипсину в мокротинні пацієнтів із загостренням ХОЗЛ (M±m)

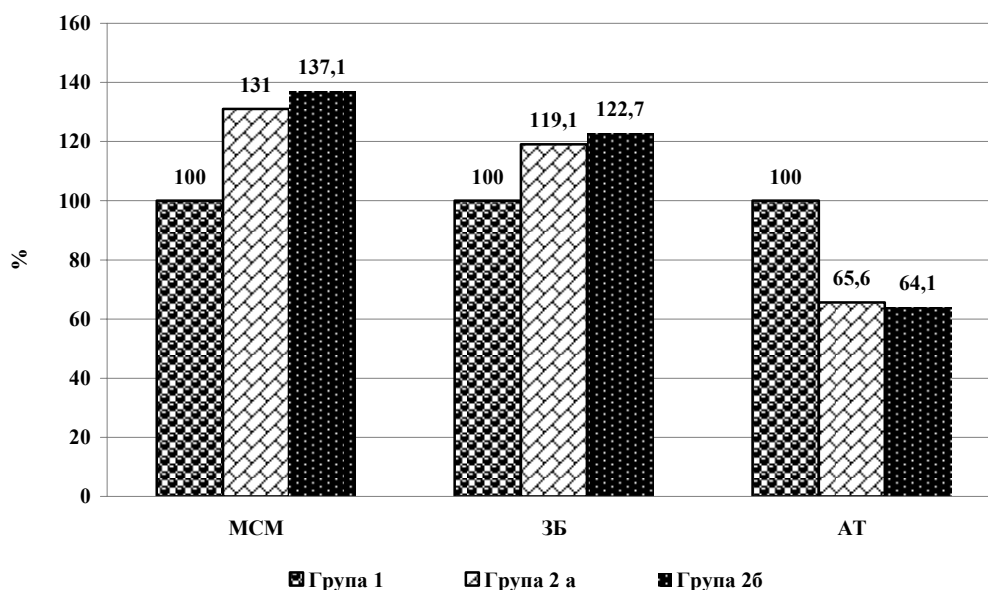
Показник	Група 1 (n=11)	Група 2 (n=21)	P
МСМ, мг/г білка	990,8±54,7	1320,5±27,2	< 0,001
Загальний білок, г/л	38,33±2,04	46,14±1,08	< 0,05
Трипсин, нмоль/с · л/ на г білку	6,41±0,44	4,15±0,17	< 0,001

Примітка: p – достовірність різниці між відповідними групами

Посилення густини та гнійності мокротиння характеризувалося підвищенням кількості загального білку. Так, рівень загального білку в презентативних зразках мокротиння був на 20,3 % вищим, ніж у непрезентативних зразках. Підвищення рівня загального білку могло бути наслідком зниження протеазної активності мокротиння, на що вказувало зниження активності трипсину. Спостерігалось інгібування на 35,2 % активності трипсину в мокротинні пацієнтів групи 2 у порівнянні з пацієнтами

групи 1. Найбільш імовірно, детерміновані процеси загострення призводили до посилення в'язкості мокротиння, його застою в бронхіальному дереві та сприяли підтримці запального процесу у слизовій бронхів.

У результаті аналізу рівнів загального білку, МСМ та активності трипсину у 2а й 2б підгрупах не було знайдено вірогідної відмінності (p = 0,37, p = 0,14 та p = 0,67 відповідно) у показниках вищенаведених біохімічних параметрів (рис.).



Порівняльна характеристика рівнів МСМ, загального білку та активності трипсину в мокротинні хворих на ХОЗЛ

Визначення концентрації білків гострої фази запалення демонструє наступне: концентрації альбуміну в сироватці крові хворих 1 та 2 групи не відрізняються між собою та показниками групи контролю. Показники С-РП у групі 1 не мали достовірної відмінності з показниками групи контролю ($p = 0,06$), в той час як показники С-РП у групі 2 перевищували аналогічні групи 1 в 4,3 раза ($p < 0,001$) (табл. 3).

Як видно з наведених в таблиці даних, показники МСМ у сироватці крові групи 1 та

групи 2 достовірно перевищують аналогічні показники групи контролю. Концентрації МСМ у крові пацієнтів із репрезентативними зразками мокротиння на 24,7 % вище показників пацієнтів із нерепрезентативними зразками мокротиння. Зростання цього показника у пацієнтів групи 2 у порівнянні з групою 1 може пояснюватися більш значущою загальною ендogenous інтоксикацією при загостреннях, причиною яких є інфекційні агенти.

Таблиця 3

Показники рівнів альбуміну, С-РП та МСМ у крові пацієнтів із загостренням ХОЗЛ ($M \pm m$)

Показник	Група 1 (n=11)	Група 2 (n=21)	Контроль (n=20)
альбумін, г/л	45,2±0,8	44,6±0,7 $p_{1-2} = 0,58$	47,2±1,3 $p_{1-к} = 0,20$ $p_{2-к} = 0,09$
С-РП, мг/л	5,4±1,4	23,1±4,6 $p_{1-2} < 0,001$	2,5 ± 0,5 $p_{1-к} = 0,06$ $p_{2-к} < 0,0001$
МСМ, мг/л	638,66±21,38	796,19±37,78 $p_{1-2} < 0,001$	542,0 ± 17,0 $p_{1-к} < 0,001$ $p_{2-к} < 0,0001$

Примітка. p – достовірність різниці між відповідними групами

Нами не було отримано достовірної різниці між рівнями біохімічних показників у сироватці крові та мокротинні хворих 2а і 2б підгруп, що може свідчити про бактеріальну природу загострень в обох підгрупах.

ВИСНОВКИ

1. Наявність у пацієнтів клінічних та мікробіологічних ознак інфекційного загострення ХОЗЛ супроводжувалася підвищенням в'язкості мокротиння з порушенням її протеолітичної

активності, а також зростанням рівня маркера ендогенної інтоксикації – МСМ – як у мокротинні, так і в сироватці крові.

2. У пацієнтів з ідентифікованим та неідентифікованим етіопатогеном (підгрупи 2а й 2б) не було виявлено достовірної різниці у біохімічних показниках мокротиння та сироватки крові.

3. Підвищення рівня МСМ у сироватці крові та мокротинні на 20-30 % на тлі зниження активності трипсину в мокротинні може свідчити про інфекційну природу загострення ХОЗЛ при

стертій клінічній симптоматиці останнього, що дозволить рекомендувати включення антибіотиків у схему лікування цієї категорії хворих.

4. Альбумін не реагує на запалення та не відрізняється у групах порівняння. У пацієнтів із репрезентативними зразками мокротиння підвищується рівень С-реактивного протеїну, що, можливо, свідчить про бактеріальну природу загострення в цієї категорії хворих.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдеев С. Н. Антибактериальная терапия обострений ХОБЛ / С. Н. Авдеев // Пульмонология и аллергология – 2004. – № 2 (13). – С. 19–22.
2. Афанасьева О. А. Клинико-патогенетические особенности пневмонии у больных различными вариантами острого нарушения мозгового кровообращения (геморрагический и ишемический инсульты) : Автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.00.05 „Внутренние болезни” / О. А. Афанасьева. — Нижний Новгород, 2006. — 25 с.
3. Бобров В.М. Молекулы средней массы – показатель интоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях ЛОР-органов / В. М. Бобров, С. А. Шишкин // Вестник оториноларингологии. – 1999. – № 1. – С. 33–34.
4. Глыбочко П.В. Механизмы эндогенной интоксикации при болезни Рейтера // П. В. Глыбочко А. Л. Бакулев А.А. Свистунов // Вестник дерматологии и венерологии. — Режим доступа до журн. : <http://www.mediasphera.ru/journals/vestnik/detail/31/57/>.
5. Гучев И. А. Инфекционное обострение хронической обструктивной болезни легких (обзор литературы) / И.А. Гучев, С. В. Сидоренко // Инфекции и антимикробная терапия. – 2005. – Т. 5, № 5–6. – С. 135–141.
6. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений: обзор литературы / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
7. Ковалев Г. И. Взаимосвязь эндогенной интоксикации и иммунодепрессии в патогенезе черепно-мозговой травмы / Г. И. Ковалев, А. М. Томников, Г. Г. Музлаев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1995. – Т. 95, № 6. – С. 4–5.
8. Копытова Т.В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах / Т. В. Копытова // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 9. – С. 7–10.
9. Корякина Е.В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом: обзор литературы / Е.В. Корякина, С.В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. – № 1. — Режим доступа до журн. : <http://medi.ru/doc/9710105.htm>.
10. Лабораторная оценка тяжести аутоиммунного эндотоксикоза при беременности, осложненной гестозом / Л. А. Пестряева, Л. Н. Юрченко, Е. А. Шипицына [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 10. – С. 7.
11. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: методичні рекомендації. – К., 1998. – 43 с.
12. Мукоактивная терапия / Амелина Е. Л., Анаев Э. Х., Красовский С. А. [и др.]; под ред. А. Г. Чучалина, А. С. Белевского. – М.: Издат. дом „Атмосфера”, 2006. – 128 с.
13. Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія": Наказ №128 від 19.03.2007.
14. Респираторная медицина. В 2 т. Т. 1. / под ред. А. Г. Чучалина. – М.: Гэотар-Медиа, 2007. – 800с.
15. С-реактивный белок – «золотой маркер», многозначительный и незаменимый [Электронный ресурс] / В.В. Вельков // – Режим доступа: http://www.diakon-diagnostics.ru/files/word-zip/Books/CRP_gold-marker.pdf
16. Сыромятникова Е. Д. Лабораторная оценка уровня эндогенной интоксикации при остром панкреатите / Е. Д. Сыромятникова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 10. – С. 15–16.
17. Anthonisen N. R., Manfreda J., Warren C. P. Antibiotic therapy in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease // Ann. Inter. Med. – 1987. – V. 106. – P. 196–204.
18. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biological Chemistry. – 1951.–Vol.193. – P.265–269.

