

УДК 616.24-008.87/.9-022.7

О.О. Штена

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

## ЗНАЧЕННЯ СУРФАКТАНТНОГО ПРОТЕЇНУ D ЯК МАРКЕРА ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ І СТУПЕНЯ ПОШКОДЖЕННЯ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ

Виявлення етіологічних факторів бактеріальної природи відіграє важливу роль у зниженні нераціонального призначення антибактеріальних препаратів. У нашому дослідженні частіше ідентифіковано *H. influenzae*, що може бути характерним для нашого регіону. Також значну частину склали *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae* та *M. catarrhalis*. Поєднання двох і більше етіологічно вагомих мікроорганізмів зустрічалися у 7 % випадків виявлення збудників серед двох груп. Штами *P. aeruginosa* та *K. pneumoniae*, *E. coli* (БЛРС) були виявлені в осіб з інфекційним загостренням ХОЗЛ в 37 % випадків. У хворих на негоспітальну пневмонію та інфекційне загострення хронічного обструктивного захворювання легень рівень SP-D був достовірно вищим на початку захворювання в порівнянні з контрольною групою, що вказує на вплив запального процесу у відображенні пошкодження легеневої тканини. Достовірної різниці між хворими з ідентифікацією етіологічно вагомого мікроорганізму та без неї не було виявлено, однак при порівнянні показників SP-D у хворих з ідентифікацією основних і «проблемних» респіраторних патогенів була зафіксована статистично вагома різниця.

**Ключові слова:** інфекційні агенти, негоспітальна пневмонія, хронічне обструктивне захворювання легень, сурфактантний білок D.

В проблематиці сучасної пульмонології продовжує зберігати значення оцінка частоти виявлення етіологічних факторів бактеріальної природи, що відіграє велику роль у зниженні нераціонального призначення антибактеріальних препаратів і ступеня тяжкості протікання процесу в залежності від виявленого етіологічного фактора або ж його відсутності і виявлення резистентних штамів [1–3].

Існує незначна кількість робіт, що стосуються змін рівня сурфактантного протеїну D SP-D у хворих з різною патологією, в основі якої певну роль відіграє гостре та хронічне запалення. Імовірно, SP-D відіграє важливу роль при інфекційному ураженні легень. Як вважають деякі вчені, SP-D можуть бути місцевими аналогами гострофазового білка, рівень концентрації якого різко зростає в гострий період захворювання [4–7].

SP-D впливає на механізми взаємодії макрофагів з патогенами. Завдяки здатності зв'язуватися з ліпополісахаридами, що знаходяться на поверхні грамнегативних бактерій, SP-D поєднується з *Pseudomonas*

*aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* та з грампозитивними бактеріями, такими як *Streptococcus pneumoniae* та *Staphylococcus aureus*, а також з мікобактеріями, вірусами, грибами. Оскільки SP-D є секреторним білком, що розпізнає і зв'язує патогенні мікроорганізми, його ще називають «секреторним рецептором, що розпізнає патогени». Отже, SP-D виступає в якості маркера патогенних мікроорганізмів, що призначені до знищення імунною системою й атрактантом для імунних клітин, тобто підвищує ефективність фагоцитозу [6–9].

Метою даної роботи було визначення структури виявлених збудників, а також визначення наявності взаємозв'язку SP-D у хворих на інфекції нижніх дихальних шляхів в залежності від виявленого респіраторного патогену та його приналежності до грампозитивних чи грамнегативних мікроорганізмів.

**Матеріал і методи.** Досліджувалися хворі на інфекції нижніх дихальних шляхів з діагнозами негоспітальна пневмонія (НП) та інфекційне загострення ХОЗЛ, які перебували

© О.О. Штена, 2015

на стаціонарному лікуванні в лікарнях м. Дніпропетровська. Діагноз пневмонія був підтверджений рентгенографічно і встановлений згідно з Наказом МОЗ України від 19.03.07 р. № 128. Діагноз ХОЗЛ встановлювали відповідно до критеріїв GOLD (2008) та згідно з Наказом МОЗ України від 27.06.13 № 555. В дослідження не включали хворих з тривалістю антибактеріальної терапії більше 24 годин.

Усім хворим проводили загальноклінічні методи обстеження, рентгенографію органів грудної клітки в двох проекціях та оцінювали функцію зовнішнього дихання (ФЗД) за допомогою спірографа MasterLab (Viasis, Німеччина).

Чутливість до антибактеріальних препаратів визначали диско-дифузійним методом. Визначали мінімальну пригнічуючу концентрацію (МПК) антибактеріального препарату. Тестування диска чутливості проводили відповідно до CLSI (раніше NCCLS guidelines), як і всі методи визначення чутливості.

Рівень SP-D у плазмі крові досліджували за допомогою імуноферментного аналізу з використанням реактивів *Hycult Biotech* (Нідерланди) згідно з протоколом виробника. Отримані результати обробили непараметричними методами статистики з використанням U-тесту Манна-Уїтні та критерію Вілкоксона. Значущими вважали відмінності між показниками в групах при  $p < 0,05$ .

**Результати.** У дослідження було включено 83 особи (78,3 %), що мали продуктивний кашель. Їх було розподілено на дві групи відповідно до встановленого діагнозу. До 1-ї групи увійшло 48 осіб з діагнозом НП, середній вік яких склав 58,6 (48,0–62,0) року, серед них 27 чоловіків і 21 жінка (56 і 44 % відповідно). До 2-ї групи увійшло 35 осіб, яким було встановлено діагноз ХОЗЛ у стадії інфекційного загострення, середній вік яких склав 64,7 (53,0–67,0) року, серед них 23 чоловіки і 12 жінок (66 і 34 % відповідно).

При проведенні мікробіологічного дослідження серед хворих обох груп вдалося виявити інфекційні агенти у 48 % випадків. Розподіл цих етіологічно вагомих мікроорганізмів наступний: *H. influenzae* – 27 %; *S. pneumoniae* – 20 %; *H. parainfluenzae* – 13 %; *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* – по 9 %; *E. coli* (БЛРС) – 4 %.

Отже, частіше за всіх було ідентифіковано *H. influenzae*, що може бути характерним для

нашого регіону. Також значну частину склали *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae* та *M. catarrhalis*.

Поєднання двох і більше етіологічно вагомих мікроорганізмів зустрічалось в 7 % випадків виявлення збудників серед двох груп. Так, у хворого на НП було виявлено асоціацію *H. influenzae* і *M. catarrhalis*, а у хворого на інфекційне загострення ХОЗЛ – поєднання трьох основних респіраторних патогенів: *H. influenzae*, *S. pneumoniae* та *M. catarrhalis*. Саме асоціація декількох збудників може створювати умови для збільшення тривалості лікування та затяжного характеру протікання запального процесу в легенях внаслідок особливості резистентності кожного мікроорганізму окремо.

Розподіл мікроорганізмів у кожній групі окремо наведено в табл. 1. Слід також зазначити, що у 1-й групі виявити етіологічно вагомий збудник вдалося в 18 (38 %) випадках, тоді як у 2-й – в 25 (71 %) випадках.

Таблиця 1. Розподіл інфекційних агентів в групах, абс. ч. (%)

Інфекційні агенти	Кількість виділених мікроорганізмів	
	НП	ХОЗЛ
<i>H. influenzae</i>	7 (39)	5 (18,5)
<i>S. pneumoniae</i>	4 (22,2)	5 (18,5)
<i>H. parainfluenzae</i>	4 (22,2)	2 (7,4)
<i>M. catarrhalis</i>	1 (5,5)	3 (11,2)
<i>S. aureus</i>	2 (11,1)	2 (7,4)
<i>K. pneumoniae</i>	–	4 (14,8)
<i>P. aeruginosa</i>	–	4 (14,8)
<i>E. coli</i> (БЛРС)	–	2 (7,4)

У хворих на НП найбільша частка ідентифікацій приходилася на *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae*, тоді як у осіб з інфекційним загостренням на ХОЗЛ, поряд з основними респіраторними збудниками, визначалася значна частка ідентифікацій таких грамнегативних мікроорганізмів, як *K. pneumoniae* та *P. aeruginosa*, що характеризуються обумовленням тяжкого й тривалого перебігу захворювання та складнощами у забезпеченні ефективної емпіричної антибактеріальної терапії (АБТ).

Дольова частка штамів *H. influenzae* та *S. pneumoniae*, що превалювали серед інших мікроорганізмів у хворих на НП і на інфекційне загострення ХОЗЛ як в монокультури (11), так і в асоціації (9) склала 51,3 %. У хворих на НП частіше виявлялися штами *H. para-*

*influenzae* у порівнянні з хворими на інфекційне загострення ХОЗЛ, тоді як штами *M. catarrhalis* частіше виявлялись у хворих на інфекційне загострення ХОЗЛ, ніж на НП. Даних щодо збудників *H. parainfluenzae* та *M. catarrhalis* в рамках нашої країни, які б були статистично перевірені та затверджені, ми не маємо. Відомо також, що закордоном *M. catarrhalis* відноситься до трійки ключових збудників НП і ХОЗЛ.

Також слід зазначити, що в 7 випадках (64 %) серед 11, де у хворих на НП були ідентифіковані *H. influenzae* та *H. parainfluenzae*, в анамнезі відзначалася наявність гострого респіраторного епізоду. Інфекційні процеси, що викликаються *H. influenzae* та *H. parainfluenzae*, характеризуються більш легким перебігом захворювання, а також охоплюють хворих молодого і середнього віку, тоді як *S. pneumoniae* може досить часто ставати етіологічною причиною тяжкого перебігу процесу та охоплювати усі вікові групи пацієнтів.

Штами *S. aureus* були виявлені в двох випадках у хворих на НП і в одному – при інфекційному загостренні ХОЗЛ. Серед них два пацієнти з 1-ї та 2-ї груп мали вік старше 60 років. Хоча *S. aureus* не відноситься до основних етіологічно вагомих збудників при даних нозологіях, передумовою етіологічної ролі цього збудника у виникненні захворювання можуть ставати похилий вік хворого, вживання алкоголю чи наркотиків, а також наявність в анамнезі гострого респіраторного епізоду. В даних випадках слід також враховувати можливість колонізації мокротиння, що могло маскувати пневмококову чи аспіраційну пневмонію.

Штами *P. aeruginosa* (4), *K. pneumoniae* (4) та *E. coli* (БЛРС) (2) були виявлені в осіб з інфекційним загостренням ХОЗЛ в 37 % випадків і є більш характерними для захворювань з хронічним перебігом. Серед хворих на НП ці збудники не були виявлені. Вони здатні обумовлювати більш тяжкий перебіг процесу та характеризуються значними рівнями резистентності, що, у свою чергу, вказує на необхідність встановлення етіологічного діагнозу при грамнегативних інфекціях.

Як відомо зі світових наукових досліджень, SP-D розглядають як частину системи вродженого імунітету легенів і ендогенний регулятор перебігу запальних реакцій в організмі, а також як маркер, що характеризує виразність місцевого запального процесу. Отримані нами результати наведені в табл. 2.

Таблиця 2. Маркери запалення у хворих 1-ї та 2-ї груп та здорових осіб

Група	Рівень SP-D, Ме [25–75%] нг/мл
1-ша	454,054 [372,04–591,01]
2-га	797,61 [490,74–1074,20]
Здорові особи	240,00 [164,74–380,00]

Рівень SP-D у хворих 1-ї групи склав 454,054 [372,04–591,01] нг/мл і був достовірно вищим за показники контрольної групи ( $p=0,002$ ). Максимальні значення SP-D у хворих 1-ї групи сягали 827,35 нг/мл у хворого з двобічним ураженням легенів, більш високі показники також визначалися у хворих з ураженням декількох часток з одного боку, що вказувало на більш виражену площу ураження та бактеріальну інфільтрацію.

Рівень SP-D у хворих 2-ї групи в середньому підвищився до 797,61 [490,74–1074,20] нг/мл, це було достовірно вище за показники здорових осіб ( $p<0,001$ ). Найвищим рівень SP-D був у пацієнта з тяжким перебігом загострення і складав 1562,29 нг/мл. В контексті захворювання це може вказувати на високий ступінь інтенсивності пошкодження легеневої тканини при загостренні хронічного запального процесу легень з урахуванням ураження значної площі поверхні легень.

Враховуючи, що SP-D опосередковано відповідає за гомеостаз ліпідів, збільшує поглинання патогенів альвеолярними макрофагами, активуючи місцевий протиінфекційний легеневий імунітет, з посиленням синтезом SP-D у відповідь на вплив мікробних агентів і розвиток запального процесу в легенях [8, 9], було досліджено зміни рівнів маркера в залежності від ідентифікації мікробного агента.

Достовірних відмінностей за отриманими результатами між хворими 1-ї групи, у яких був ідентифікований інфекційний агент, та хворими без ідентифікації мікроорганізму не було виявлено ( $p=0,358$ ). Така ж ситуація спостерігалася у хворих з 2-ї групи ( $p=0,235$ ). Різниця не визначалася при аналізі між хворими, у яких були ідентифіковані грамнегативні і грампозитивні інфекційні агенти ( $p=0,573$ ).

Однак достовірна різниця відзначалася серед хворих з ідентифікацією мікроорганізму в залежності від приналежності патогену до основних респіраторних збудників чи «проблемних» мікроорганізмів. Рівень SP-D в останніх був достовірно вищим ( $p=0,038$ ), ніж

у перших. Отримані результати можуть бути пов'язані з тим, що проблемні мікроорганізми виявлялися в 90 % випадків у хворих на інфекційне загострення ХОЗЛ, хронічний перебіг їх захворювання обумовлював більшу площу ураження, а виявлені проблемні патогени мали змогу впливати на інтенсивність ураження легеневої тканини. Також важливо відзначити, що була виявлена тенденція ( $p=0,062$ ) до менших значень SP-D у хворих з ідентифікованою *P. aeruginosa* відносно інших випадків виявлення проблемних патогенів.

Можливо, отримані результати пов'язані з недостатньою кількістю проведених досліджень, однак слід констатувати, що SP-D не є тим маркером, який може в 100 % випадків свідчити про наявність у етіологічно вагомих концентрації мікробного інфекційного агента взагалі чи приналежність його до грампозитивних або грамнегативних мікроорганізмів, а тому клініко-рентгенологічні дані та дані бактеріологічного дослідження мокротиння є провідними у встановленні етіологічного діагнозу та призначенні АБТ, а отже, SP-D не є маркером наявності ін-

фекційного процесу та відображає рівень пошкодження легеневої тканини.

### Висновки

1. У хворих на негоспітальну пневмонію та інфекційне загострення ХОЗЛ штами *H. influenzae*, *S. pneumoniae* та *H. parainfluenzae* серед основних респіраторних патогенів зустрічалися частіше. Серед «проблемних» мікроорганізмів ідентифікувалися найбільше штами *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* (БЛРС) у хворих на інфекційне загострення ХОЗЛ.

2. Рівень SP-D у хворих на негоспітальну пневмонію та інфекційне загострення ХОЗЛ був достовірно вищим на початку захворювання в порівнянні з контрольною групою, що вказує на вплив запального процесу на відображення пошкодження легеневої тканини.

3. Достовірної різниці між хворими з ідентифікацією етіологічно вагомого мікроорганізму та без неї не було виявлено, однак при порівнянні показників SP-D у хворих з ідентифікацією основних і «проблемних» респіраторних патогенів була зафіксована статистично вагома різниця.

### Література

1. Дзюблик Я.О. Клінічні аспекти антибіотикорезистентності збудників негоспітальних інфекцій дихальних шляхів / Я.О. Дзюблик // Укр. пульмонолог. журнал. – 2010. – № 3. – С. 53–56.
2. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2012 / European Centre for Disease Prevention and Control. – 2013. – 205 p.
3. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report [Electronic Resource] / WHO, 2013. — Режим доступу : <http://www.goldcopd.com/>
4. Новая стратегия управления иммунным ответом при заболеваниях легких – роль сурфактантного белка D как бивалентного фактора репрограммирования макрофагов / С.В. Лямина, С.В. Круглов, Т.Ю. Веденикин, И.Ю. Малышев // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 1. – С. 90–97.
5. McCormack F.X. The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung / F.X. McCormack, J.A. Whitsett // J. Clin. Invest. – 2002. – Vol. 109 (6). – P. 707–712.
6. Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD / D.A. Lomas, E.K. Silverman, L.D. Edwards, et al. // Eur. Respir. J. – 2009. – Vol. 34. – P. 95–102.
7. Surfactant protein D (SP-D) serum levels in patients with acquired pneumonia / R. Leth-Larsen, C. Nordenbaek, I. Tornoe, et al. // Clinical Immunology. – 2003. – Vol. 108. – P. 29–37.
8. Hartl D. Surfactant protein D in human lung diseases / D. Hartl, M. Griesse // Eur. J. Clinical Investigation. – 2006. – Vol. 36. – P. 423–435.
9. Kuan S. Interactions of surfactant protein D with bacterial lipopolysaccharides / S. Kuan, K. Rust, E. Crouch // J. Clin. Invest. – 1992. – Vol. 90. – P. 97–106.

### О.А. Шмена

#### ЗНАЧЕНИЕ СУРФАКТАНТНОГО ПРОТЕИНА D КАК МАРКЕРА ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ

Выявление этиологических факторов бактериальной природы играет важную роль в снижении нерационального назначения антибактериальных препаратов. В нашем исследовании чаще всего

было идентифицировано *H. influenzae*, что может быть характерным для нашего региона. Также значительную часть составили *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae* и *M. catarrhalis*. Сочетание двух и более этиологически значимых микроорганизмов встречалось в 7 % случаев выявления возбудителей. Штаммы *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* (БЛРС) были обнаружены у лиц с инфекционным обострением ХОБЛ в 37 % случаев. У больных с внегоспитальной пневмонией и инфекционным обострением хронической обструктивной болезни легких уровень SP-D был достоверно выше в начале заболевания по сравнению с контрольной группой, что указывает на влияние воспалительного процесса в отражении повреждения легочной ткани. Достоверной разницы между больными с идентификацией этиологически значимого микроорганизма и без нее не было обнаружено, однако при сравнении показателей SP-D у больных с идентификацией основных и «проблемных» респираторных патогенов была зафиксирована статистически значимая разница.

**Ключевые слова:** инфекционные агенты, внебольничная пневмония, хроническая обструктивная болезнь легких, сурфактантный белок D.

#### **O.A. Shtepa**

#### **MEANING OF SURFACTANT PROTEIN D AS A MARKER OF PATHOGENIC MICROORGANISMS AND THE DEGREE OF DAMAGE OF THE LUNG TISSUE**

Great value in modern pulmonology plays identify the infectious agents, plays an important role in reducing irrational appointment antibiotics. According to the data obtained in our study, the most frequently it has been identified *H. influenzae*, which may be typical for our region. Also a significant part made *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae* and *M. catarrhalis*. The combination of two or more infectious agents occurred in 7% of cases of the identification of the pathogens. *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* (ESBL) were detected in patients with infectious exacerbation of COPD in 37% of cases. Patients with community-acquired pneumonia and infectious exacerbations of COPD SP-D levels were significantly higher in the beginning of the disease compared with the control group, indicating the effect of the inflammatory process in lung tissue damage reflection. Significant difference between patients with the identification of infectious agents and without it was not revealed, but in comparing SP-D levels in patients with identification basic and «problem» respiratory pathogens was detected statistically significant difference.

**Key words:** infectious agents, community-acquired pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, surfactant protein D.

Поступила 02.09.15