

## ВЗАИМОСВЯЗИ УРОВНЯ БЕЛКА КЛОТО И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Левченко В.А., Полунина Е.А., Прокофьева Т.В., Полунина О.С.

*ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru*

Цели исследования – изучить уровень белка К1 у пациентов с бактериальной внебольничной пневмонией (ВП) и выявить наличие корреляционных связей с показателями эндогенной интоксикации (такими как молекулы средней массы (МСМ), креатинин, мочевины). Обследованы 75 человек, из которых 45 были с диагнозом ВП (основная группа) и 30 – соматически здоровых лиц (в качестве группы контроля). Среди пациентов с бактериальной этиологией ВП среднетяжелое течение было у 35 человек (77,8%), тяжелое течение ВП – у 10 человек (22,2%). Уровень белка Клото (нг/мл) определяли в образцах плазмы методом иммуноферментного анализа. Выявлено, что у пациентов с ВП уровень белка К1 статистически значимо ниже ( $p < 0,001$ ), чем у соматически здоровых лиц. Также уровень белка К1 был статистически значимо ниже ( $p = 0,006$ ) у пациентов с тяжелым течением ВП по сравнению с пациентами со среднетяжелым течением. Между уровнем белка К1 и показателями эндогенной интоксикации (такими как МСМ, креатинин, мочевины) было выявлено наличие статистически значимых, отрицательных корреляционных связей. Сила взаимосвязей была больше между уровнем К1 и уровнем креатинина ( $-0,56$ ) и мочевины ( $-0,65$ ), чем между уровнем белка К1 и МСМ ( $-0,44$ ).

Ключевые слова: внебольничная пневмония, белок Клото, молекулы средней массы, креатинин, мочевины.

## RELATIONSHIPS OF THE KLOTRO PROTEIN LEVEL AND INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Levchenko V.A., Polunina E.A., Prokofieva T.V., Polunina O.S.

*Astrakhan State Medical University, Russia, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru*

The aim of the study was to study the level of K1 protein in patients with bacterial community-acquired pneumonia (CAP) and to identify the presence of correlations with indicators of endogenous intoxication (medium mass molecules (MSM), creatinine, urea). A total of 75 people were examined, of which 45 were diagnosed with CAP (main group) and 30 somatically healthy individuals (as a control group). Among patients with bacterial etiology of CAP, 35 people had a moderate course. (77.8%), severe CAP in 10 people. (22.2%). Klothro protein level (ng/ml) was determined in plasma samples by enzyme immunoassay. It was found that in patients with CAP the level of K1 protein was statistically significantly lower ( $p < 0.001$ ) than in somatically healthy individuals. Also, the level of K1 protein was statistically significantly lower ( $p = 0.006$ ) in patients with severe CAP, compared with patients with moderate CAP. Between the level of K1 protein and indicators of endogenous intoxication (MSM, creatinine, urea), the presence of statistically significant, negative correlations was revealed. The strength of relationships was greater between K1 levels and creatinine ( $-0.56$ ) and urea ( $-0.65$ ) levels than between K1 protein levels and MSM ( $-0.44$ ).

Keywords: community-acquired pneumonia, Klothro protein, medium mass molecules, creatinine, urea.

В связи с широкой распространенностью среди лиц разных возрастов и высокой летальностью внебольничная пневмония (ВП) является серьезной проблемой для системы здравоохранения во всем мире. Современные исследования отечественных и зарубежных авторов направлены на улучшение исходов заболевания, сокращение продолжительности госпитализации и снижение смертности среди пациентов с ВП. Безусловно, одним из значимых вкладов в реализацию данных направлений является изучение различных биомаркеров, играющих роль в патогенезе ВП [1, 2].

Одним из недавно идентифицированных и активно изучаемых биомаркеров является белок Клото (К1). К настоящему времени доказано, что дефицит белка К1 может быть пусковым механизмом не только ускоренного старения, но и развития возраст-ассоциированных заболеваний, включая артериальную гипертензию, остеопороз, атеросклероз [3, 4].

Активно изучается роль белка К1 в патогенезе бронхолегочной патологии, такой как хроническая обструктивная болезнь легких, рак легких [5, 6]. Также доказана его вовлеченность в целый ряд патофизиологических процессов, лежащих в основе патогенеза ВП, среди которых – окислительный стресс, апоптоз, воспаление и др. [7, 8].

В современной литературе имеются единичные, в основном экспериментальные, исследования белка К1 при пневмонии. Результаты данных исследований свидетельствуют о перспективности изучения белка К1 и возможности использования его в качестве терапевтической мишени [9, 10].

Одним из обязательных клинических признаков и неотъемлемым звеном патогенеза у пациентов с ВП является эндогенная интоксикация. При высоком уровне эндогенной интоксикации возможности естественных механизмов дезинтоксикации существенно ограничиваются за счет срыва компенсаторно-приспособительных механизмов. Доказано, что выраженность эндогенной интоксикации коррелирует с тяжестью ВП, обуславливает эффективность проводимой терапии и нередко определяет прогноз заболевания [11, 12].

В доступной литературе не представлено исследований по изучению взаимосвязей уровня белка К1 и показателей, характеризующих выраженность синдрома эндогенной интоксикации у пациентов с ВП.

Цель исследования: изучить уровень белка К1 у пациентов с бактериальной ВП и выявить наличие корреляционных связей с показателями эндогенной интоксикации (такими как молекулы средней массы (МСМ), креатинин, мочевины).

**Материалы и методы исследования.** Были обследованы 75 человек, из которых 45 были с верифицированным диагнозом ВП (основная группа), получавших лечение на базе терапевтического отделения ГБУЗ АО Астраханская «Городская клиническая больница № 2 им. братьев Губиных».

Критериями включения в исследование пациентов основной группы служили: верифицированный диагноз ВП, возраст  $\leq 60$  лет. Критериями исключения служили: наличие в анамнезе сахарного диабета, хронической обструктивной болезни легких, ожирение 3-й степени, наличие другого хронического заболевания в стадии обострения и онкопатологии в анамнезе.

В качестве контроля были обследованы 30 соматически здоровых лиц. Среди соматически здоровых лиц было 17 человек (56,7%) мужского пола и 13 человек (43,3%) женского пола. Возраст соматически здоровых лиц составил 30 [28–34] лет против 34 [27–47] лет у пациентов с ВП ( $p=0,067$ ). Проведение клинического исследования было одобрено локальным Этическим комитетом (от 06.11.2018 г.).

Гендерно-возрастная и анамнестическая характеристика пациентов с ВП представлена в таблице 1.

Таблица 1

Гендерно-возрастная и анамнестическая характеристика пациентов с ВП

Показатель	Пациенты с ВП (n=45)
Возраст, лет	33 [27;46]
Пол	
муж, абс.	26 (55,3%)
жен, абс.	19 (42,2%)
В анамнезе:	
Ишемическая болезнь сердца:	
– стенокардия, абс.	10 (22,2%)
– перенесенный в прошлом инфаркт миокарда, абс.	4 (8,9%)
Артериальная гипертензия, абс.	14 (31,1%)
Дислипидемия, абс.	16 (35,6%)
Ожирение, абс.	21 (53,3%)
Табакокурение, абс.	17 (37,78%)
Кол-во дней от начала заболевания до госпитализации	3 [3–4]
Жалобы:	
Повышение температуры, абс.	43 (95,6%)
Кашель, абс.	42 (93,3%)
Одышка, абс.	31 (68,9%)
Общая слабость, абс.	34 (75,6%)
Боли в грудной клетке, абс.	5 (11,1%)
Выделение мокроты, абс.	16 (35,6%)
Односторонняя пневмония, абс.	32 (71,1%)
Двухсторонняя пневмония, абс.	13 (28,9%)

Среди пациентов с ВП бактериальной этиологией среднетяжелое течение было у 35 человек (77,8%), тяжелое течение – у 10 человек (22,2%).

Уровень белка Клото (нг/мл) определяли в образцах плазмы методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческой тест-системы «Klotho (KL)» (UscnLifeScienceInc. Wuhan, каталожный номер E97957Hu). Уровень МСМ (усл. ед.) определяли в плазме крови при длине волн 280 нм (выявляется фракция МСМ, содержащая ароматические аминокислоты) методом спектрофотометрии на аппарате спектрофотометре УФ-видимой области Cary-50 компании «Agilent Technologies» (USA) (оптический диапазон 190–1100 нм) по методике Н.И. Габриэлян и др. (1984 г.) с раствором трихлоруксусной

кислоты [13]. Из показателей эндогенной интоксикации также были проанализированы уровни креатинина и мочевины в крови.

Данные обрабатывались в программах StatTech v. 2.5.9 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>). Сравнение по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна–Уитни. Направление корреляционной связи между двумя количественными показателями с распределением, отличным от нормального, оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Теснота связи оценивалась по шкале Чеддока. Пороговое значение p-value было принято за ≤0,05.

**Результаты исследования и их обсуждение.** По результатам анализа уровня белка K1 у обследованных лиц были выявлены статистически значимые различия между соматически здоровыми лицами и пациентами с ВП (p<0,001) (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение уровней белка K1 (нг/мл) у обследуемых лиц

Обследуемые	n	Me	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	p
Соматически здоровые лица	30	0,69	0,63–0,90	<0,001*
Бактериальная ВП	45	0,51	0,43–0,59	

\* –p<0,05

Среди пациентов с ВП у 14 человек (15,2%) уровень белка K1 не выходил за границы интерквартильного размаха группы контроля и у 78 человек (84,8%) был ниже значений интерквартильного размаха группы контроля. Минимальное значение уровня белка K1 составило 0,34 нг/мл, а максимальное – 0,79 нг/мл.

При анализе уровня белка K1 в зависимости от степени тяжести ВП было выявлено, что его уровень статистически значимо ниже у пациентов с тяжелым течением по сравнению с пациентами со среднетяжелым течением (p=0,006). У пациентов с тяжелым течением ВП уровень белка K1 составил 0,43 [0,40–0,49] нг/мл против 0,52 [0,46–0,65] нг/мл у пациентов со среднетяжелым течением (рис. 1).

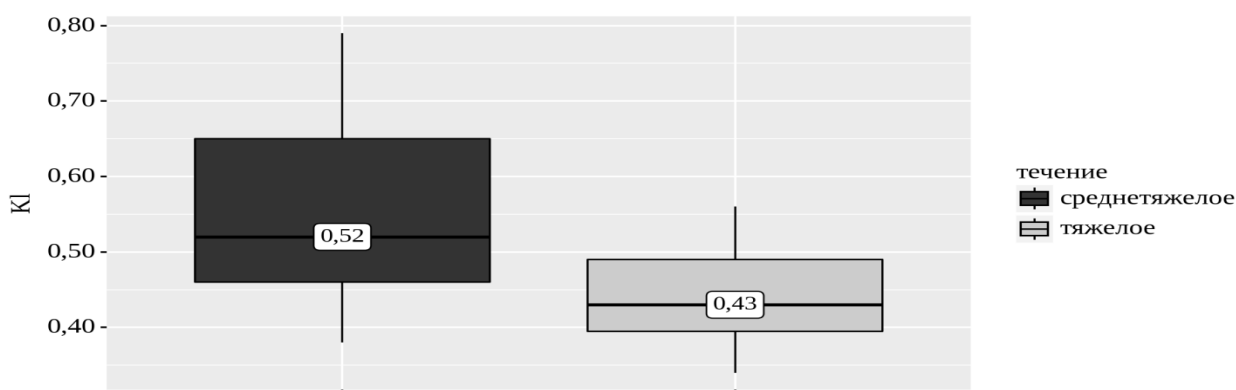


Рис. 1. Анализ уровня белка KL у пациентов с ВП со среднетяжелым и тяжелым течением

В качестве маркеров эндогенной интоксикации нами были проанализированы уровни МСМ, креатинина и мочевины. Некоторые исследователи считают, что уровень МСМ является одним из чувствительных признаков эндогенной интоксикации. Статистически значимые различия в уровнях МСМ у пациентов с острой пневмонией с разной степенью тяжести были выявлены в исследовании Е.А. Бородина с соавт. (2003) [14], статистически значимые различия уровня МСМ по сравнению с группой контроля (уровень был выше в 1,7 раза) и у пациентов с разной степенью тяжести ВП были продемонстрированы в исследовании Б.И. Гельцера (2020) [15].

Как видно из данных, представленных в таблице 3, уровень МСМ у соматически здоровых лиц и у пациентов с бактериальной ВП имел статистически значимые различия ( $p < 0,001$ ).

Таблица 3

Сравнение уровней МСМ (усл. ед.) у обследуемых лиц

Обследуемые	n	Me	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	p
Соматически здоровые лица	30	0,280	0,273–0,288	<0,001*
Бактериальная ВП	45	0,391	0,312–0,456	

\* –  $p < 0,05$

При этом у пациентов с тяжелым течением ВП уровень МСМ составил 0,352 [0,308–0,427] усл. ед. против 0,466 [0,447–0,499] усл. ед. у пациентов со среднетяжелым течением. Различия были статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

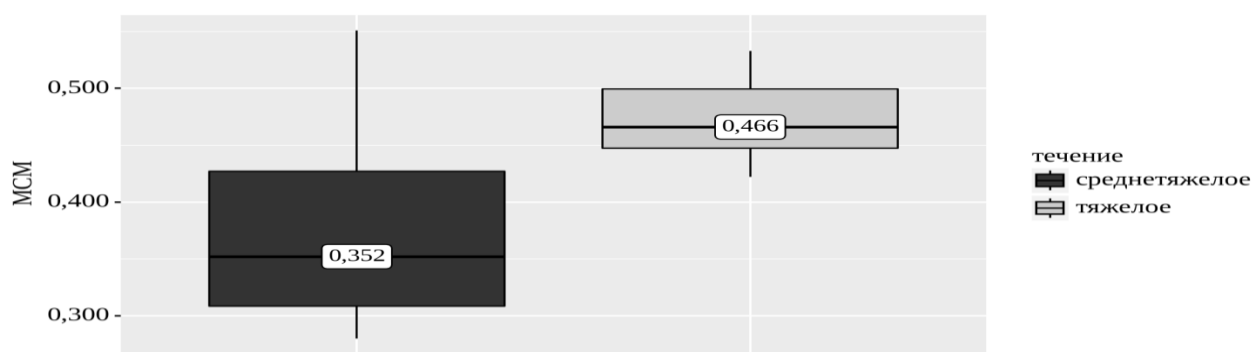


Рис. 2. Анализ уровня МСМ у пациентов с ВП со среднетяжелым и тяжелым течением

Значение уровня креатинина у пациентов с бактериальной ВП было 109,4 [95,1–120,1] мкмоль/л, мочевины –  $5,9 \pm 0,9$  (95% ДИ; 5,7–6,2) ммоль/л. Уровни креатинина и мочевины у пациентов с бактериальной ВП в зависимости от течения заболевания имели статистически значимые различия ( $p < 0,002$ ,  $p < 0,001$ ). Так, уровень креатинина был статистически значимо выше у пациентов с тяжелым течением ВП и составил 124,8 [116,9–135,9] мкмоль/л против 106,0 [93,0–117,6] мкмоль/л у пациентов со среднетяжелым течением.

Уровень мочевины также был статистически значимо выше у пациентов с тяжелым течением ВП и составил  $6,9 \pm 0,6$  (95% ДИ; 6,5–7,3) ммоль/л против  $5,7 \pm 0,7$  (95% ДИ; 5,4–5,9) ммоль/л у пациентов со среднетяжелым течением.

Далее нами был проведен корреляционный анализ для определения наличия корреляционной зависимости, направленности и тесноты по шкале Чеддока между уровнем белка К1 и показателями эндогенной интоксикации – МСМ, креатинином и мочевиной – у пациентов с бактериальной ВП. Взаимосвязи между уровнем белка К1 и уровнями креатинина и мочевины были статистически значимыми, отрицательные. Теснота связей по шкале Чеддока была заметная (рис. 3).

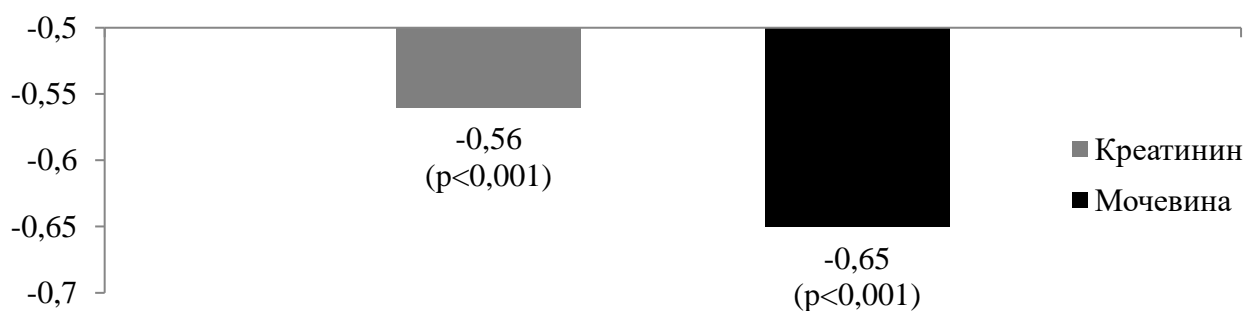


Рис. 3. Взаимосвязи между уровнем белка К1 и показателями эндогенной интоксикации (МСМ, креатинином, мочевиной) у пациентов с бактериальной ВП

Взаимосвязь уровня белка K1 и МСМ была статистически значимой ( $p=0,002$ ), отрицательной. Коэффициент корреляции составил  $-0,44$ . Теснота связи по шкале Чеддока умеренная.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о наличии взаимосвязей между уровнем белка K1 и маркерами выраженности эндогенной интоксикации, а также о перспективности изучения уровня белка K1 для диагностики тяжести ВП. Так, у пациентов с ВП уровень белка K1 статистически значимо ниже, чем у соматически здоровых лиц. Также уровень белка K1 статистически значимо ниже у пациентов с тяжелым течением ВП по сравнению с пациентами со среднетяжелым течением. Между уровнем белка K1 и показателями эндогенной интоксикации (МСМ, креатинином, мочевиной) выявлено наличие статистически значимых отрицательных корреляционных связей. Сила взаимосвязей была больше между уровнем K1 и уровнем креатинина ( $-0,56$ ) и мочевины ( $-0,65$ ), чем между уровнем белка K1 и МСМ ( $-0,44$ ).

### Список литературы

1. Надеев А.П., Козяев М.А., Абышев А.А., Чеканов М.Н., Блажитко Е.М., Пешкова И.В., Овсянко Е.В. Внебольничная пневмония: эпидемиология, этиология и клинко-морфологические параллели // Journal of Siberian Medical Sciences. 2019. № 4. С. 20-29. DOI: 10.31549/2542-1174-2019-4-20-29.
2. Lopardo G.D., Fridman D., Raimondo E., Albornoz H., Lopardo A., Bagnulo H., Goleniuk D., Sanabria M., Stambouljian D. Incidence rate of community-acquired pneumonia in adults: a population-based prospective eactive surveillance study in three cities in South America. British Medical Journal Open. 2018. vol. 8. no. 4. P. e019439 DOI: 10.1136/bmjopen-2017-019439.
3. Sosnowski B., Bachórzewska-Gajewska H., Dobrzycki S., Malyszko J. Klotho not only antiageing protein. Przegląd Lekarski. 2017. vol. 74. no. 1. P. 25-29.
4. Заклякова Л.В., Овсянникова Е.Г., Левитан Б.Н., Шамгунова Б.А., Петелина И.Ю., Болгова М.Ю., Вознюк М.А. Белок Klotho в клинической практике // Астраханский медицинский журнал. 2021. Т. 16. № 2. С. 26-36. DOI: 10.17021/2021.16.2.26.36.
5. Shin I.S., Shin H.K., Kim J.C., Lee M.Y. Role of Klotho, an antiaging protein, in pulmonary fibrosis. Archives of Toxicology. 2015. vol. 89. no. 5. P. 785-95. DOI: 10.1007/s00204-014-1282-y.
6. Pako J., Bikov A., Barta I., Matsueda H., Puskas R., Galffy G., Kerpel-Fronius A., Antus B., Horvath I. Assessment of the circulating klotho protein in lung cancer patients. Pathology Oncology Research. 2020. vol. 26. no. 1. P. 233-238 DOI: 10.1007/s12253-018-0441-5.

7. Mitobe M., Yoshida T., Sugiura H., Shirota S., Tsuchiya K., Nihei H. Oxidative stress decreases Klotho expression in a mouse kidney cell line. *Nephron Experimental Nephrology*. 2005. vol. 101. № 2. P. e67-74 DOI: 10.1159/000086500.
8. Hu J., Su B., Li X., Li Y., Zhao J. Klotho overexpression suppresses apoptosis by regulating the Hsp70/Akt/Bad pathway in H9c2(2-1) cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2021. vol. 21. no. 5. P. 486. DOI: 10.3892/etm.2021.9917.
9. Sato Y., Tansho-Nagakawa S., Ubagai T., Ono Y. Analysis of Immune Responses in *Acinetobacter baumannii*-Infected Klotho Knockout Mice: A Mouse Model of *Acinetobacter baumannii* Infection in Aged Hosts. *Frontiers in Immunology*. 2020. no. 11, P. 601614 DOI: 10.3389/fimmu.2020.601614.
10. Barnes J.W., Duncan D., Helton S., Hutcheson S., Kurundkar D., Logsdon N.J., Locy M., Garth J., Denson R., Farver C., Vo H.T., King G., Kentrup D., Faul C., Kulkarni T., De Andrade J.A., Yu Z., Matalon S., Thannickal V.J., Krick S. Role of fibroblast growth factor 23 and klotho cross talk in idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology Lung Cellular Molecular Physiology*. 2019. vol. 317. no. 1. P. L141-L154. DOI: 10.1152/ajplung.00246.2018.
11. Ким А.П., Макаров А.Б., Котельников В.Н. Современные представления об коррекции эндогенной интоксикации при внебольничной пневмонии // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. 2014. № 6-2. С. 51-52.
12. Котельников В.Н., Карпенко А.А., Ким А.П., Гельцер Б.И. Ультраструктурные АСМ-маркеры эндогенной интоксикации при внебольничной пневмонии // Современные технологии в медицине. 2017. Т. 9. № 2. С. 53-60.
13. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев А.А. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Методические рекомендации. М.: Изд-во Московского университета, 1985. С. 35.
14. Бородин Е.А., Егоршина Е.В., Самсонов В.П. Биохимия эндотоксикоза. Механизмы развития и оценка степени тяжести при воспалительных заболеваниях легких // Благовещенск: АГМА. 2003. С. 129.
15. Гельцер Б.И., Дей А.А., Титоренко И.Н., Котельников В.Н. Сравнительный анализ силы дыхательных мышц при внебольничной пневмонии с различной тяжестью эндогенной интоксикации // Терапевтический архив. 2020. Т. 92. № 3. С. 19-24. DOI: 10.26442/00403660.2020.03.000372.