

**ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ**  
**ORIGINAL ARTICLES**

**ЗНАЧЕНИЕ НА СЕРУМНИТЕ БИОМАРКЕРИ ЗА ОЦЕНКА НА ТЕЖЕСТТА НА ПРИДОБИТА  
В ОБЩЕСТВОТО ПНЕВМОНИЯ ПРИ ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ДЕЦА**

И. Цочева<sup>1</sup>, В. Исаев<sup>1</sup>, С. Парина<sup>1</sup>, Л. Райчева<sup>1</sup>, П. Переновска<sup>1</sup>, А. Цакова<sup>2</sup> и М. Велизарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиника по педиатрия, УМБАЛ „Александровска“ – София

<sup>2</sup>Централна клинична лаборатория, УМБАЛ „Александровска“ – София

**UTILITY OF SERUM BIOMARKERS FOR THE ASSESSMENT OF DISEASE SEVERITY  
IN HOSPITALIZED CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA**

I. Tzotcheva<sup>1</sup>, V. Issaev<sup>1</sup>, S. Parina<sup>1</sup>, L. Raycheva<sup>1</sup>, P. Perenovska<sup>1</sup>, A. Tzakova<sup>2</sup> and M. Velizarova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Pediatrics, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia

<sup>2</sup>Central Clinical Laboratory, University Hospital "Alexandrovska" – Sofia

<b>Резюме:</b>	<p>При пациентите с пневмония класическите критерии за инфекция, основани на клинични симптоми, левкоцитоза, микробиологични изследвания и рентгенов образ, са с ниска чувствителност и често са недостатъчни за поставяне на етиологична диагноза и оптимизиране на антибиотичното лечение. Целта на изследването бе да се установи диагностичната и прогностичната стойност на серумните нива на hsCRP, PCT и sTREM-1 при хоспитализирани деца с придобита в обществото пневмония. Изследвани бяха 50 деца на средна възраст 9 г. 1 мес. Анализирани бяха промените в броя и диференциалното броене на левкоцитите, СУЕ, hsCRP, PCT и sTREM-1 при приемането и на петия ден от началото на парентералното антибиотично лечение. Установена бе висока положителна корелация между hsCRP и PCT (<math>r = 0.81</math>, <math>p &lt; 0.001</math>), абсолютен брой левкоцити и неутрофили (<math>r = 0.44</math>, <math>p = 0.002</math>). Стойностите на hsCRP бяха статистически значимо по-високи при деца с по-тежка клинична картина, инфилтративна пневмония и парапневмоничен излив. PCT при приемането бе сигнификантно по-висок при пациентите със задържащ се фебрилитет повече от 72 часа след започването на парентерална антибиотична терапия. CRP и PCT допринасят за оценка на тежестта на пневмонията, но за sTREM-1 не се установяват сигнификантни зависимости.</p>
<b>Ключови думи:</b>	пневмония, деца, биомаркери, CRP, PCT, sTREM-1
<b>Адрес за кореспонденция:</b>	<i>Д-р Ирен Цочева, дм, Клиника по педиатрия, УМБАЛ "Александровска", Медицински университет, ул. "Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София, тел. 02 9230373, GSM 0887207028, e-mail: irenmd@yahoo.com</i>
<b>Summary:</b>	<p>In patients with pneumonia traditional criteria of infection based on clinical signs, leukocytosis, microbiology cultures and radiographic imaging, are often with low sensitivity and unreliable to determine the etiology and guide the antibiotic treatment. We investigated the diagnostic and prognostic values of serum biomarkers hsCRP, PCT and sTREM-1 in hospitalized children with community-acquired pneumonia. 50 children, with the mean age of 9 years and 1 month, are included. The changes in numbers and differential count of leucocytes, ESR and serum hsCRP, PCT and sTREM-1 on admission and 5 days after the beginning of the parenteral antibiotic therapy were analyzed. A highly positive correlation between hsCRP and PCT (<math>r = 0.81</math>, <math>p = 0.000</math>), leukocytosis and neutrophilia (<math>r = 0.44</math>,</p>

<p><b>Key words:</b></p> <p><b>Address for correspondence:</b></p>	<p>p = 0.002) was found. The levels of hsCRP were statistically significantly elevated in the children with a more severe clinical picture, infiltrative pneumonia and parapneumonic effusion. PCT on admission was significantly higher in children with fever, lasting more than 72 hours after the beginning of parenteral antibiotic therapy. CRP and PCT contribute to the assessment of pneumonia severity, but we did not find significant correlations for sTREM-1.</p> <p>pneumonia, children, biomarkers, CRP, PCT, sTREM-1</p> <p><i>Iren Tzotcheva, M.D., Clinic of Pediatrics, University Hospital "Alexandrovska", Medical University, 1, Sv. G. Sofiiski St., Bg – 1431 Sofia, tel. +359 29230373, GSM +359 887207028, e-mail: irenmd@yahoo.com</i></p>
--	--

Пневмонията остава водеща причина за хоспитализация при децата и въпреки съвременните постижения в медицината точното и бързо откриване на случаите с потенциал за развитие на усложнения остава предизвикателство. След навлизането в имунизационните програми на ваксинация срещу Haemophilus тип b и Streptococcus pneumoniae редица проучвания съобщават увеличение на честотата на атипичните и вирусните пневмонии [10]. Класическият метод за етиологична диагноза чрез изследване на храчка в детска възраст среща редица затруднения. Получаването на качествен материал от долните дихателни пътища е много трудно, а и отрицателният резултат не изключва бактериална инфекция. Несигурна е и корелацията между рентгенографските изменения в белия дроб, неспецифичните маркери на възпалението и тежестта на заболяването [6]. Имайки предвид тези трудности, през последното десетилетие редица изследователски колективи са предприели съгласувани действия за откриване на „идеалния“ биомаркер при пневмония. За да бъде полезен в рутинната клинична практика, изследваният биомаркер трябва да подпомага поставянето на бърза и точна диагноза, да има прогностична стойност, да отразява ефекта от лечението, да реагира бързо и сигнификантно при възникване на усложнение [2]. Над 100 биомаркера от различни класове са тествани в серум на инфекциозно болни пациенти, но едва няколко са навлезли в рутинната лабораторна практика.

C-реактивният протеин (CRP) е острофазов белтък, който се синтезира в хепатоцитите и реагира още на 6-ия час при системно възпаление и тъканен разпад. Той се използва широко поради високата си чувствителност към инфекциозни стимули, въпреки неспецифичността си за разграничаване на вирусни от бактериални инфекции [7].

Прокалцитонинът (PCT) е прохормон на активния хормон калцитонин и се синтезира както от C-клетките на щитовидната жлеза, така и от много паренхимни клетки и моноцити. При раз-

лични проучвания на хоспитализирани пациенти е установено, че PCT е по-чувствителен и специфичен показател за разграничаване на бактериални от вирусни и неинфекциозни възпалителни промени в сравнение с CRP [5].

Тригериращият рецептор, експресиран върху миелоидни клетки (TREM-1), е наскоро описан рецептор върху неутрофили и моноцити, принадлежащ към системата на вродения имунитет [13]. Активацията му от бактериални токсини води до освобождаване на проинфламаторни цитокини като TNF $\alpha$  и IL-8 и усиляване на възпалителния отговор. Увеличени серумни стойности на разтворимата му форма, наречена sTREM-1, са установени при тежки инфекции като сепсис, бактериален менингит и остър панкреатит [15].

**Целта** на настоящото проучване е да се установи диагностичната и прогностичната стойност на серумните нива на биомаркерите прокалцитонин и sTREM-1 в сравнение с класически използваните C-реактивен протеин и абсолютен левкоцитен брой при хоспитализирани деца с придобита в обществото пневмония.

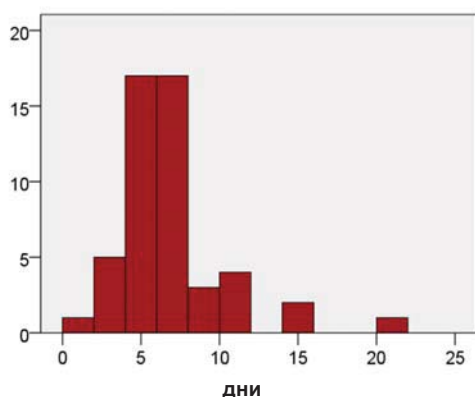
## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвани бяха 50 деца на средна възраст 9 г. 1 мес. (2 г. 4 мес. ÷ 17 г. 5 мес.), хоспитализирани по повод придобита в обществото пневмония от октомври 2014 до януари 2015 г. в Клиника по педиатрия, УМБАЛ „Александровска“, София. В проучването не бяха включени децата с установени хронични заболявания, като вродени аномалии, бронхопулмонална дисплазия, муковисцидоза, както и тези с придружаващи сърдечни и неврологични заболявания. Изследвани са пълна кръвна картина (ПКК), диференциално броене на левкоцити, СУЕ и серумни нива на високоспецифичния CRP (hsCRP), PCT и sTREM-1 при приемането и на петия ден от началото на парентералното антибиотично лечение. При всички деца бе осъществена фасова рентгенография на бял дроб. За установяване на етиологичния причинител на пневмонията, в зависимост от способност-

та на пациентите да експекторират, бе изследвана храчка или гърлен секрет. Серумните нива на PCT са изследвани чрез автоматичен имунохимичен метод, а тези на hsCRP – чрез автоматичен турбидиметричен метод. За определяне нивата на разтворимата форма на тригериращия рецептор, експресиран върху миелоидни клетки (sTREM-1), бе използван ELISA метод (Bioassay Technology Laboratory, LTD). Резултатите бяха анализирани с компютърна програма SPSS v.20, като бяха използвани следните статистически методи на анализ: дескриптивен анализ, статистическа зависимост между качествени променливи (crosstabulation), параметрични (t-тест) и непараметрични методи (U-тест на Mann-Whitney). Нивото на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, бе  $p < 0,05$ . Силата на връзката между различни параметри бе оценена чрез рангов корелационен метод на Spearman.

## РЕЗУЛТАТИ

Разпределението на пациентите по пол бе, както следва: 52% момчета и 48% момичета. Шест деца (12%) имаха анамнеза за придружаващо заболяване бронхиална астма. По-голямата част от пациентите (54%) бяха започнали перорален прием на антибиотик амбулаторно. Нуждата от стационарно лечение бе оценена в широк времеви диапазон от началните симптоми на заболяването, най-често между 4-ия и 7-ия ден (фиг. 1).



Фиг. 1. Продължителност на симптомите в дни преди хоспитализацията

Според рентгенографската си характеристика пневмонията бе разделена на интерстициална и инфилтративна, като в изследваната група съотношението бе 1:1.

Серумните концентрации на hsCRP, PCT, sTREM-1 с техните средни, минимални и максимални стойности при хоспитализацията и на петия ден от лечението са представени в табл. 1.

Повишени стойности на hsCRP над референтните за лабораторията ( $> 5 \text{ mg/l}$ ) бяха установени при 93.9% от децата, постъпили за стационарно лечение. При значително по-малък процент от пациентите (70.2%) бяха установени серумни нива на PCT над  $0.046 \text{ ng/ml}$  (референтни за лабораторията).

В табл. 2 са представени лабораторните данни за общ брой левкоцити, абсолютен брой неутрофили, наличие на олевяване (%St) и СУЕ при приемането и на 5-ия ден. Установена бе статистически значима положителна корелация между стойностите на hsCRP и на PCT ( $r = 0.81$ ,  $p = 0.000$ ), абсолютен брой левкоцити и неутрофили ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.002$ ), %St ( $r = 0.62$ ,  $p = 0.000$ ), СУЕ ( $r = 0.53$ ,  $p < 0.001$ ), но не и при sTREM-1 при хоспитализацията. Тези зависимости се задържаха статистически значими и на 5-ия ден. Серумните стойности на PCT при приемането в най-висока степен корелираха със степента на олевяване ( $r = 0.72$ ,  $p = 0.000$ ).

В педиатрията няма утвърдена точкова система за оценка на тежестта на пневмонията в детска възраст, за разлика от SCOR системите при възрастни. По тази причина Британската торакална общност и Американската асоциация по детски инфекциозни болести препоръчват използването на клинични показатели като фебрилитет, тахипнея, цианоза, дехидратация, хипоксемия [1, 9]. Използвайки този подход, ние установихме, че статистически значимо по-високи са стойностите на hsCRP при деца с тахипнея и/или тираж и белези на дехидратация при хоспитализацията (фиг. 2), както и при пациентите с инфилтративна пневмония и параневмоничен излив (фиг. 3).

Статистически значима разлика бе установена и при определяне на серумните стойности на PCT, като пациентите с инфилтративна пневмония и тези със задържащ се фебрилитет повече от 72 ч от началото на парентералната антибиотична терапия показаха сигнификантно по-високи стойности (фиг. 4).

Серумните стойности на hsCRP и PCT при хоспитализацията бяха статистически значимо по-ниски при пациентите, провеждали амбулаторна антибиотична терапия: за hsCRP  $122 \text{ mg/l}$  vs.  $33 \text{ mg/l}$ ,  $p = 0.004$  и за PCT  $8 \text{ ng/ml}$  vs.  $0.2 \text{ ng/ml}$ ,  $p = 0.001$ .

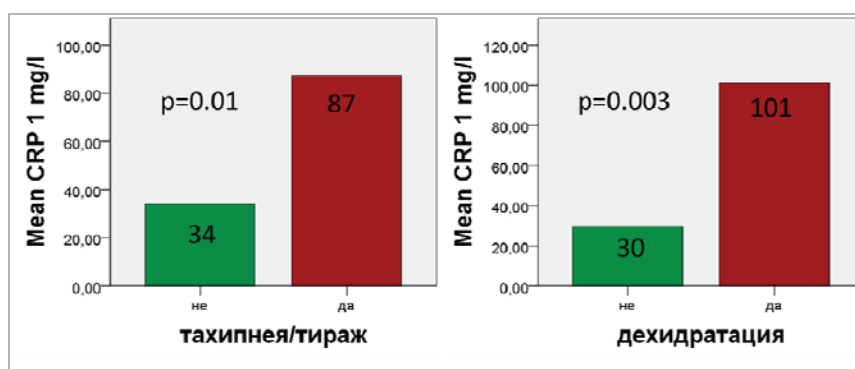
При децата с инфилтративна пневмония серумните стойности на hsCRP и PCT се задържаха сигнификантно по-високи на 5-ия ден от лечението (фиг. 5).

Таблица 1. Серумни концентрации на hsCRP, PCT и sTREM-1 при хоспитализирани деца с пневмония, придобита в обществото

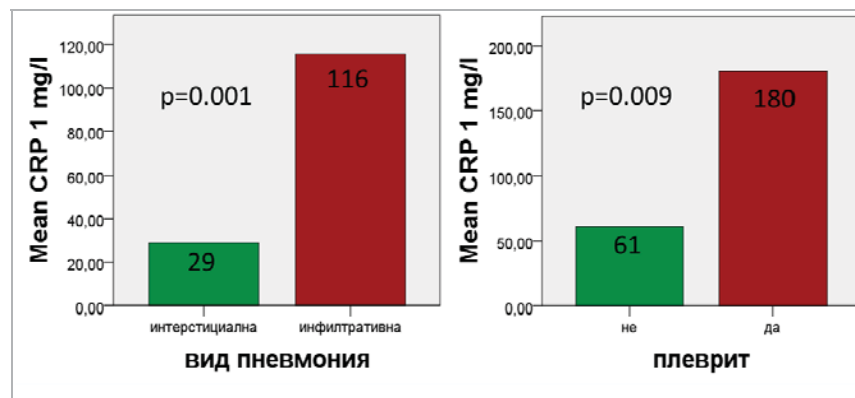
Параметър	hsCRP (mg/l)		PCT (ng/ml)		sTREM-1 (ng/l)	
	средна	min-max	средна	min-max	средна	min-max
ден 0.	73.26	0.16-509	3.65	0.01-101	251.6	6.01-961
ден 5.	11.48	0.16-93.1	0.35	0.01-9.51	263.0	85.5-961

Таблица 2. Стойности на левкоцити, неутрофили, %St и СУЕ при хоспитализирани деца с пневмония, придобита в обществото

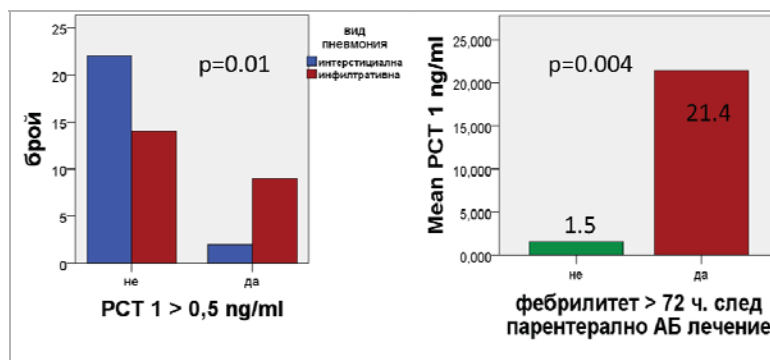
Параметър	WBC ( $10^6/l$ )		Neu ( $10^6/l$ )		Stab (%)		СУЕ (mm/1h)	
	средна	min-max	средна	min-max	средна	min-max	средна	min-max
ден 0.	10.42	4.0-46.2	8.30	2.4-44.8	9.42	0-40	31.71	9-64
ден 5.	7.42	3.7-24.5	4.79	1.0-21.6	2.0	0-16	29.67	8-63



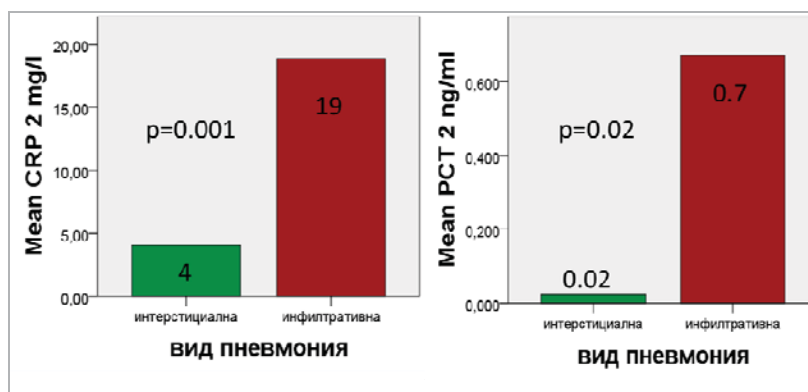
Фиг. 2. Стойности на hsCRP при хоспитализацията в зависимост от клиничните показатели за тежест на пневмонията



Фиг. 3. Стойности на hsCRP при хоспитализацията в зависимост от вида на пневмонията и наличието или липсата на плеврит



Фиг. 4. Серумни стойности на PCT в зависимост от вида на пневмонията и задържащ се фебрилитет



Фиг. 5. Серумни стойности на hsCRP и PCT на 5-ия ден от лечението в зависимост от рентгенологичната характеристика на пневмонията

При анализ на sTREM-1 не бе установена сигнификантна разлика между серумните му нива при приемането и на 5-ия ден, но двете стойности показаха висока линейна корелация ( $r = 0.91$ ;  $p < 0.001$ ). Не бяха установени статистически значими зависимости между стойностите на sTREM-1 при хоспитализацията и на 5-ия ден и останалите изследвани параметри.

### ОБСЪЖДАНЕ

През последните години определянето на серумните биомаркери навлезе широко в рутинната клинична практика. В това изследване ние потвърждаваме, че има системно увеличение в нивата на провъзпалителните маркери hsCRP и PCT при деца с пневмония, придобита в обществото, като концентрациите им рязко спадат на 5-ия ден от лечението. hsCRP е над горната граница на нормата при по-голям процент от хоспитализираните пациенти, което отразява поликлоналната стимулация (вирусна и бактериална) на неговия синтез. Максималната стойност на hsCRP 509 mg/l получихме при дете с доказан чрез PCR от венозна кръв причинител на пневмонията *Streptococcus pneumoniae*. Този случай ни припомни, че името CRP произлиза от способността му да преципитира С-полизахарида на *Streptococcus pneumoniae* и първоначално е описан като тест за пневмококова пневмония [14]. В синхрон и с други проучвания ние установяваме, че определянето на серумните нива на hsCRP и PCT допринася за оценка на тежестта на пневмонията в детската възраст [6]. CRP, изследван при хоспитализацията, корелира с клиничните белези за тежест на заболяването, като тахипнея, тираж, дехидратация, като такава зависимост не установихме за рутинно използваните показатели от ПКК – общ брой левкоцити, абсолютен брой неутрофили и СУЕ.

В резултат на бактериалните токсини, серумните стойности на PCT могат да се увеличат до 100 000 пъти над изходните. Поради този факт през последните години PCT е активно проучван като индикатор за тежка системна инфекция и сепсис [12]. Ние също установихме в нашето проучване, че PCT е биомаркер с прогностична стойност. Пациентите, които задържаха фебрилитет повече от 72 часа след началото на парентералната антибиотична терапия, имаха по-висока стойност на PCT при приемането. Този факт трябва да насочи клинициста към по-агресивно антибиотично лечение още от началото и към много внимателно проследяване на децата за развитие на парапневмонични усложнения [11]. Повечето от нашите пациенти са приемали антибиотик преди хоспитализацията. При тях серумните нива на hsCRP и PCT бяха сигнификантно по-ниски, факт, описан и от други изследователи [3]. Този резултат е от практическо значение и трябва да се взема предвид при оценяване стойностите на възпалителните биомаркери. В проведеното изследване, при инфилтративните пневмонии, класически приемани като по-тежки, стойностите на hsCRP и PCT се задържаха високи продължително време. Това потвърждава факта, че серийното изследване на биомаркерите може да се използва за избягване на ненужно дълги антибиотични курсове, без риск за пациента [4].

Няколко проучвания от последните години определят sTREM-1 като обещаващ биомаркер при диагностика на бактериална пневмония и сепсис, докато други не потвърждават тези данни [8, 16]. Резултатите от проведеното от нас изследване определиха sTREM-1 като биомаркер с бавна динамика в серумните нива, което го прави неподходящ, когато се търси динамично проследяване на ефекта от лечението.

### ИЗВОДИ

- CRP и PCT, изследвани паралелно с показателите от ПКК, допринасят за оценка на тежестта на пневмонията.

- CRP корелира по-добре с клиничните показатели за тежест на заболяването в момента на хоспитализацията.

- PCT е биомаркер с прогностична стойност относно хода на заболяването и неговите усложнения.

- Амбулаторно започнатата антибиотична терапия трябва да се взема предвид при оценяване стойностите на CRP и PCT, тъй като те са статистически значимо по-ниски в тези случаи.

- sTREM-1 е биомаркер с бавна динамика в серумните нива, което го прави неподходящ, когато се търси динамично проследяване на ефекта от лечението.

---

*Настоящото проучване е осъществено по Научноизследователски Проект № 11/2014, Договор № 66/2014 към Съвета по медицинска наука, Медицински университет – София.*

### Библиография

1. Bradley, J. et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, **53**, 2011, 7, 25-76.
2. Christ-Crain, M., S. M. Opal. Clinical review: the role of biomarkers in the diagnosis and management of community-acquired pneumonia. *Crit Care*, **14**, 2010, 1, 203-214.
3. Christ-Crain, M., B. Müller. Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *Eur Respir J*, **30**, 2007, 3, 556-573.
4. Christ-Crain, M. et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet*, **363**, 2004, 9409, 600-607.
5. Don, M. et al. Efficacy of serum procalcitonin in evaluating severity of community-acquired pneumonia in childhood. *Scand J Infect Dis*, **39**, 2007, 2, 129-37.
6. Don, M. et al. Prediction of delayed recovery from pediatric community-acquired pneumonia. *Ital J Pediatr*, **36**, 2010, 51-56.
7. Dupuy, A. M. et al. Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review: I – currently available biomarkers for clinical use in acute infections. *Ann Intensive Care*, **3**, 2013, 1, 22-30.
8. Gibot, S., A. Cravoisy. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin Med Res*, **2**, 2004, 3, 181-187.
9. Harris, M. et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011, *Thorax*, **66**, 2011, Suppl 2.
10. Jain, S., et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med*, **372**, 2015, 9, 835-845.
11. Menendez, R. et al. Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia. *Thorax*, **63**, 2008, 447-452.
12. Ramirez, P. et al. Inflammatory biomarkers and prediction for intensive care unit admission in severe community-acquired pneumonia. *Crit Care Med*, **39**, 2011, 10, 2211-2217.
13. Ruiz-González, A. et al. Triggering receptor (TREM-1) expressed on myeloid cells predicts bacteremia better than clinical variables in community-acquired pneumonia. *Respirology*, **16**, 2011, 2, 321-325.
14. Tillett, W. S., T. Jr. Francis. Serological reactions in pneumonia with non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*, **52**, 1930, 561-571.
15. Van Bremen, T. et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (Trem-1) on blood neutrophils is associated with cytokine inducibility in human E. coli sepsis. *Diagn Pathol*, **8**, 2013, 24-30.
16. Velásquez, S. et al. Characterization of nCD64 expression in neutrophils and levels of s-TREM-1 and HMGB-1 in patients with suspected infection admitted in an emergency department. *Biomedica*, **33**, 2013, 4, 643-52.

*Постъпила за печат на 1 юли 2015 г.*