

БЕЛОК КЛЕТОК КЛАРА (CLUB CELL PROTEIN) — НОВЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ КАНДИДАТНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ БИОМАРКЕР ПРИ НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

В. В. Мороз¹, А. М. Голубев¹, А. Н. Кузовлев¹, А. К. Шабанов², В. М. Писарев¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Москва, Россия
107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва, Россия
129010, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3

Clara Cell Protein (Club Cell Protein) is a New Diagnostic Molecular Candidate Biomarker in Nosocomial Pneumonia

V. V. Moroz¹, A. M. Golubev¹, A. N. Kuzovlev¹, A. K. Shabanov², V. M. Pisarev¹

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow, Russia
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031

² N. V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russia
3, B. Sukharevskaya Sq., Moscow 129010

Нозокомиальная пневмония (НП) остается актуальной проблемой реаниматологии. Значительными перспективами в отношении диагностики НП обладают молекулярные биомаркеры. *Цель исследования.* Оценить информативность содержания белка клеток Клара (Club Cell Protein, CCP) в плазме крови в качестве диагностического кандидатного молекулярного биомаркера при НП. *Материалы и методы.* Исследование было проведено в НИИ ОР РАМН в 2010–2013 гг. В исследование было включено 85 больных в соответствии с критериями включения и исключения, а также 30 доноров. Диагностика ОРДС и его стадий проводилась по критериям НИИ ОР РАМН. Измерение содержания белка клеток Клара (CCP) в плазме выполняли с помощью иммуноферментного метода Human Clara Cell Protein ELISA, RD191022200, BioVendor, США. Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7,0. Для определения чувствительности и специфичности CCP был проведен ROC-анализ. Достоверным считали различие при $p < 0,05$. *Результаты.* Содержание CCP в плазме больных НП было в течение 1, 3, 5 и 7 суток исследования ниже, чем у больных без НП. Содержание CCP в плазме больных НП и больных без НП было в течение всех суток исследования выше, чем у здоровых доноров. Нами показано, что у больных, у которых НП была вызвана *Pseudomonas aeruginosa* (в ассоциации с другими возбудителями), содержание CCP в плазме крови в 1-е и 3-и сут. было значительно ниже, чем у больных без *Pseudomonas aeruginosa*. Содержание CCP в первые сутки исследования $\leq 17,5$ нг/мл обладает чувствительностью 86,5% и специфичностью 66,7% в отношении диагностики НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* (площадь под кривой 0,74; 95% доверительный интервал 0,630–0,829; $p = 0,0001$). Прогностическая ценность положительного результата данного теста составила 81,8%, отрицательного результата – 74,1%. *Заключение.* Изучена динамика содержания в плазме крови больных нозокомиальной пневмонией белка клеток Клара. Показано, что белок клеток Клара информативен для диагностики нозокомиальной пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* — содержание в плазме крови CCP в день диагностики нозокомиальной пневмонии $\leq 17,5$ нг/мл обладает чувствительностью 86,5% и специфичностью 66,7% в отношении диагностики НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*. *Ключевые слова.* Нозокомиальная пневмония, биомаркер, белок клеток Клара, диагностика, сепсис.

Nosocomial pneumonia (NP) remains a relevant problem of resuscitation. Molecular biomarkers are significant promises for diagnosing NP. *Objective:* to estimate the informative value of the plasma levels of Clara cell protein (Club Cell Protein, CCP) as a diagnostic molecular candidate biomarker in NP. *Subjects and methods.* The investigation was conducted at the Research Institute of General Reanimatology (RIGR), Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), in 2010–2013. It included 85 patients in accordance with the criteria of inclusion and exclusion and 30 donors. Acute respiratory distress syndrome and its stages were diagnosed using the criteria of RIGR, RAMS. Plasma Clara cell protein (CCP) levels were measured by the enzyme immunoassay Human Clara Cell Protein ELISA, RD191022200, BioVendor, USA. The findings were statistically analyzed using the package Statistica 7.0. ROC curve analysis was made to determine the sensitivity and specificity of CCP. The difference at $p < 0.05$ was considered significant. *Results.* On days 1, 3, 5, and 7 of the investigation,

Адрес для корреспонденции:

Кузовлев Артем Николаевич
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Correspondence to:

Kuzovlev Artem Nikolaevich
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

the plasma CCP levels in patients with NP were lower than in those without this disease. Within all these days, the plasma CCP concentrations in patients with and without NP were higher than in healthy donors. On days 1 and 3, the plasma content of CCP was much lower in patients in whom NP had been caused by *Pseudomonas aeruginosa* (in association with other pathogens) than in those with NP uncaused by *Pseudomonas aeruginosa*. Within the first 24 hours, the CCP level of ≤ 17.5 ng/ml had 86.5% sensitivity and 66.7% specificity in diagnosing *Pseudomonas aeruginosa*-induced NP (area under curve, 0.74; 95% confidence interval, 0.630–0.829; $p=0.0001$). The prognostic value of the positive and negative results of this test was 81.8 and 74.1%, respectively. **Conclusion.** The time course of changes in the plasma levels of Clara cell protein was studied in the patients with nosocomial pneumonia. Clara cell protein was shown to be of informative value in the diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa*-induced NP; on the day when nosocomial pneumonia was diagnosed, the plasma CCP level of ≤ 17.5 ng/ml had 86.5% sensitivity and 66.7% specificity in diagnosing *Pseudomonas aeruginosa*-induced NP. **Key words:** nosocomial pneumonia, biomarker, Clara cell protein, diagnosis, sepsis.

DOI:10.15360/1813-9779-2014-6-6-14

Введение

Тяжелые инфекционные осложнения критических состояний, в частности нозокомиальная пневмония (НП), являются актуальными проблемами реаниматологии [1–3]. Нозокомиальная пневмония — заболевание, характеризующееся появлением на рентгенограмме новых очагово-инфильтративных изменений в легких спустя 48 ч и более после госпитализации в сочетании с клиническими данными, подтверждающими их инфекционную природу (новая волна лихорадки, гнойная мокрота или гнойное отделяемое трахеобронхиального дерева, лейкоцитоз и др.), при исключении инфекций, которые имелись в инкубационном периоде на момент поступления больного в стационар [4].

Нозокомиальная пневмония — самая частая нозокомиальная инфекция в отделениях реаниматологии. Частота НП у хирургических больных составляет 6% после плановых хирургических вмешательств и 15% после экстренных. Атрибутивная летальность при НП достигает 30%. Летальность при НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* в ассоциации с другими возбудителями, составляет 40–68% [5–6].

Своевременная диагностика НП определяет результативность лечения данного тяжелого инфекционного осложнения. Имеющиеся в настоящее время клинические и инструментальные методы диагностики НП обладают низкой чувствительностью и специфичностью. Значительным потенциалом в отношении ранней диагностики, мониторинга эффективности лечения и прогнозирования исходов НП обладают молекулярные биомаркеры [7–12].

Идеальный биомаркер должен быть включен в патогенез НП, обладать достаточной чувствительностью и специфичностью; важна также легкость забора материала и точность методики измерения. Биомаркер должен давать возможность диагностики НП раньше, чем будут доступны результаты микробиологических исследований. В качестве потенциальных биомаркеров при НП обсуждаются прокальцитонин, копеппин, растворимый триггерный рецептор миелоидных клеток первого типа, С-реактивный протеин, интерлейкин-1 β , ингибитор активатора плазминогена 1 типа, сурфактантные протеины и др.

Многочисленные исследования не подтвердили диагностической или прогностической значимости

Introduction

Severe infectious complications of critical states, e.g. nosocomial pneumonia (NP) present a significant problem [1–3]. Nosocomial pneumonia — is a disease which is characterized by infiltration on chest X-ray 48 hrs. after hospitalization plus clinical data confirming the infectious nature of these changes (new wave of fever, purulent mucus, leucocytosis etc), excluding infections in incubation period at the time of admission [4].

Nosocomial pneumonia is the most prevalent nosocomial infection in intensive care unit. Its incidence is 6% after elective surgery and 15% after emergency. Attributive mortality in NP is 30%. Mortality in NP caused by *Pseudomonas aeruginosa* is up to 40–68% [5–6].

Prompt diagnosis of NP determines the outcome. Current clinical and instrumental methods of NP diagnosis are of low sensitivity and specificity. Molecular biomarkers present a great outlook for the diagnosis, monitoring and prognostication of NP [7–12].

Ideal biomarker must be involved in the NP pathogenesis, present good sensitivity and specificity. Molecular biomarker should be informative before the obtaining of the results of microbiological tests. Procalcitonin, copeptin, soluble trigger receptor of myeloid cells type I, C-reactive protein, interleukin-1 β , inhibitor of plasminogen activator type I, surfactant protein were investigated as candidate biomarkers of NP.

The diagnostic informativity of sTREM-1 was not confirmed by the studies. Four large-scale studies of procalcitonin as a biomarker of NP were highly heterogenic in design. Procalcitonin sensitivity was 41–100%, specificity 97–100%. Procalcitonin is important to make a decision to stop the antibiotic therapy, but its use does not decrease the duration of hospital stay or mortality [8–12]. No reliable data on C-reactive protein exist [11–17]. None of the abovementioned biomarkers is specific for the pulmonary inflammation. Search of new molecular biomarkers of NP is of great importance.

The aim of investigation. To estimate the informativity of plasma Club Cell Protein (CCP) as a candidate molecular biomarker in NP.

Materials and Methods

This multicenter observation trial was performed at the V. A. Negovsky research institute of general reanimatology in

Характеристики групп и подгрупп больных на момент включения в исследование Patients characteristics

Parameters	Value of parameters in the groups and subgroups		
	PNEUMONIA		NO PNEUMONIA
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> +	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -	
Number of patients (<i>n</i>)	36 (78.2%)	46	10 (21.8%)
Sex (male/female) (<i>n</i>)	22/5	36/10	14/5
Mean age (years, $M \pm \sigma$)	55.3 ± 15.5	55.3 ± 15.1	56.1 ± 14.5
Nosologies (<i>n</i>)		peritonitis 55% pancreatitis 35% mediastinitis 10%	peritonitis 60% pancreatitis 32% mediastinitis 8%
APACHE II (scores, $M \pm \sigma$)	16.0 ± 4.9	15.0 ± 4.1	16.8 ± 9.1
SOFA (scores, $M \pm \sigma$)	6.7 ± 2.2	7.0 ± 2.6	7.1 ± 2.7
Duration of intensive care unit stay, days	16.8 ± 8.1	16.8 ± 8.9	14.0 ± 7.9
30-days mortality (<i>n</i>)	4 (8.6%)	7 (15%)	3 (6.5%)

Note (примечание). Parameters – показатели; value of parameters in the groups and subgroups – значение показателей в группах и подгруппах; number of patients (*n*) – число больных (*n*); sex (male/female) (*n*) – пол (мужчины/женщины) (*n*); mean age (year, $M \pm \sigma$) – средний возраст (лет, $M \pm \sigma$); nosologies (*n*) – нозологическая структура (*n*); APACHE II (scores, $M \pm \sigma$) – баллы по шкале APACHE II; SOFA (scores, $M \pm \sigma$) – баллы по шкале SOFA; duration of intensive care unit stay, days – длительность пребывания в отделении реаниматологии, сут.; 30-days mortality (*n*) – 30-дневная летальность (*n*); PNEUMONIA – пневмония; NO PNEUMONIA – нет пневмонии; peritonitis – перитонит; pancreatitis – панкреатит; mediastinitis – медиастенит. * – $P < 0.05$ reliable differences between groups, Newman-Keuls test (достоверность различий между группами).

sTREM-1 (растворимый триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках). Четыре крупных исследования по информативности прокальцитонина при НП крайне разнородны по выборкам больных и использованным методикам. Чувствительность прокальцитонина по данным этих исследований составила от 41 до 100%, специфичность 97–100%. Прокальцитонин информативен для принятия решения об отмене антибиотикотерапии при НП, но его использование не приводит к снижению продолжительности пребывания больного в стационаре или летальности [8–12]. Достоверных данных по С-реактивному протеину в качестве биомаркера при НП недостаточно [11–17]. Кроме того, ни один из вышеперечисленных биомаркеров не является специфичным для воспаления на территории легких. Актуальной является проблема поиска новых чувствительных и специфичных молекулярных биомаркеров при НП.

Цель исследования – оценить информативность содержания белка клеток Клара (Club Cell Protein, CCP) в плазме крови в качестве диагностического кандидатного молекулярного биомаркера при нозокомиальной пневмонии.

Материал и методы

Данное многоцентровое наблюдательное исследование было проведено на клинических базах НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН в 2010–2013 гг. Исследование было одобрено локальным Этическим комитетом и проведено в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации, Национальными стандартами и рекомендациями НИИОР РАМН. Больные были включены в исследование в соответствии с критериями включения и исключения (см. таблицу).

2010–2013. The investigation was approved by the local ethical committee and was guided according to the Helsinki declaration, national and institute standards.

Inclusion and exclusion criteria and patients characteristics (Table):

Inclusion criteria: age 30–60 y.o.; severe septic complications (severe acute pancreatitis, peritonitis, mediastinitis), ventilated patient. Patients were enrolled on the day of NP diagnosis.

Exclusion criteria: APACHE II > 26; trauma; severe immune deficiency; contraindications for arterial catheterization; left ventricular insufficiency; pregnancy; simultaneous enrollment in other clinical trials.

Healthy donors were enrolled into the comparison group (Fig. 1). Eight ml of venous blood was performed in this group to assess the physiological level of biomarker. Patients were split into groups according to the NP diagnostic criteria. Nosocomial pneumonia was diagnosed according to the National criteria [4]. Figure 1 and Table 1 deal with patients characteristic.

Eight ml of venous blood was performed in enrolled patients on day 1, 3, 5 and 7. Blood was centrifuged for 10 min under 2000 rpm. Three-four ml of plasma was frozen under -20°C. Independent technicians measured CCP plasma concentration by means of Human Clara Cell Protein ELISA, RD191022200, BioVendor, USA).

Nosocomial pneumonia and sepsis was diagnosed in accordance with international, National and institute guidelines [18–19]. All patients were ventilated (Puritan Bennett 840 (Puritan-Bennett Corporation, USA); SIMV and BiLevel modes), experienced step-by-step recruitment maneuvers, N-acetylcysteine (300 mg BID), restrictive fluid strategy and diuretics, specialized nutrition support. Nutrition was performed by means of adapted products, by enteral route through the nasogastric tube. Parenteral nutrition was used when required.

Patients of all groups were assessed by APACHE II, clinical signs, blood gases, ventral hemodynamics, total blood count and chest X-ray. Blood gases were analyzed by Bayer 865 Blood Gas Analyzer (Bayer, Germany). Total blood count was made by Advia 60 (Bayer, Germany) automatic analyzer. Central hemodynamics

Критерии включения: возраст 30–60 лет; хирургический больной с тяжелыми гнойно-септическими осложнениями (панкреонекроз, перитонит, медиастинит), находящийся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Больных НП включали в исследование в день диагностики пневмонии.

Критерии исключения: тяжесть состояния по АРАСНЕ $\Pi > 26$ баллов или предполагаемый летальный исход в течение 24 ч; травмированные; тяжелый иммунодефицит; противопоказания к катетеризации бедренной артерии (тяжелое атеросклеротическое поражение магистральных артерий, гипокоагуляция (АЧТВ $>$ нормы в 2 раза, МНО $>$ 2), тромбоцитопения менее $50 \cdot 10^9/\text{л}$); недостаточность левого желудочка (клинические данные, оценка показателей объемной преднагрузки); беременность; параллельное участие в других клинических исследованиях.

В группу сравнения были отобраны здоровые доноры, давшие свое согласие на участие в данном исследовании (рис. 1; не страдают хроническими заболеваниями органов дыхания; не курят). В группе сравнения был выполнен однократный забор 8 мл венозной крови для исследования физиологического уровня кандидатных биомаркеров. Распределение больных по группам производилось в соответствии с диагностическими критериями НП. Диагностика НП производилась в соответствии с Национальными рекомендациями [4]. Характеристики больных в исследованных группах представлены на рис. 1 и в таблице. Анализ динамики содержания ССР в зависимости от наличия/отсутствия *Pseudomonas aeruginosa* в посевах мокроты проводился в соответствующих подгруппах больных группы «Пневмония» (рис. 1, таблица).

Для исследования содержания ССР выполняли забор 8 мл венозной крови в стандартные пробирки с этилендиаминтетраацетатом при включении в исследование, на 3-и, 5-е и 7-е сут. Кровь центрифугировали в течение 10 мин. со скоростью 2000 об/мин. Плазму крови в количестве 3–4 мл отделяли и замораживали в отдельных пробирках без консерванта при температуре -20°C . Измерение содержания ССР в образцах крови проводили независимые лаборанты, не владеющие информацией о больных, включенных в исследование. Содержание ССР измеряли иммуноферментным методом с помощью набора Human Clara Cell Protein ELISA, RD191022200, BioVendor, США).

Лечение НП и сепсиса проводилось в соответствии с международными, Национальными рекомендациями и научными разработками НИИ ОР РАМН [18–19]. У всех больных ОРДС применяли респираторную поддержку в соответствии с концепцией безопасной ИВЛ (аппараты Puritan Bennett 840 (Puritan-Bennett Corporation, США), вспомогательные режимы вентиляции SIMV и BiLevel в режиме с контролем по объему или по давлению), приемы «открытие легких» по пошаговой методике (по показаниям), N-ацетилцистеин (300 мг в/в 2 р/сут.), ограничение инфузий/трансфузий и диуретики (фуросемид – 800–1000 мг в/в в течение 24 ч.), специализированную нутритивную поддержку. Раннее энтеральное питание начинали у всех больных после стабилизации гемодинамики (в течение 6–8 ч. от поступления в отделение реаниматологии). Использовались специализированные смеси типа Пульмо в объеме 1,0–1,5 л/сут. + энтеральное питание, обогащенное омега-3 жирными кислотами (до 500 мл/сут., суммарно 2000–2500 ккал/сут.) + фармаконутриенты (глутамин 100 мл в/в 1 р/сут., омегавен 100 мл в/в 1 р/сут.). Энтеральное питание проводили через назогастральный зонд с использованием помп для энтерального питания. Несколько раз в сутки оценивали эффективность проводимой нутритивной поддержки путем оценки остаточного объема содержимого желудка. При невозможности полноценного обеспечения энергетических потребностей больного путем энтерального питания его комбинировали с парентеральным (формулы «три в одном»).

Больные всех групп были обследованы по следующему алгоритму (день включения в исследование, 3-и, 5-е и 7-е

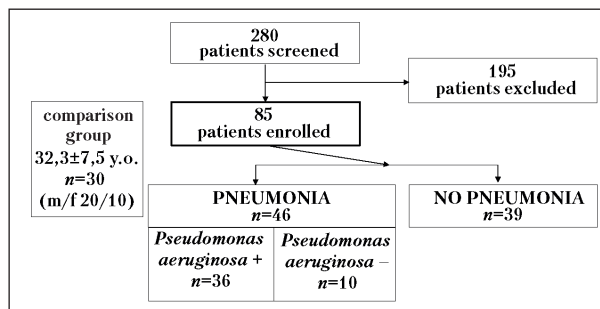


Рис. 1. Алгоритм включения больных в исследование.

Fig. 1. Patients enrollment in the study.

Note (примечание): patients screened – число обследованных больных; patients excluded – число исключенных из исследования больных; patients enrolled – число больных включенных в исследование; comparison group – группа сравнения (здоровые доноры); pneumonia – группа с пневмонией; no pneumonia – группа без пневмонии.

and pulmonary volumetric indexes were assessed by transpulmonary thermodilution by means of M1012A#C10 «Pulsion PiCCO Plus» (Pulsion Medical Systems, Germany). The arterial catheter was in place for not more than 10 days. Arterial line was flushed by heparin solution 1 U/ml. 15 ml of cold isotonic saline solution was used for the calibration. Three injections were done two times a day. The following indexes were recorded: heart rate, arterial/ systolic/ diastolic and mean blood pressure, central venous pressure, stroke volume, cardiac output, peripheral vascular resistance, global end-diastolic volume, intrathoracic volume, extravascular lung water and correspondent indexes.

Statistical analysis was performed by Statistica 7.0. Parametric methods were used (Newman-Keuls test); data were presented as median \pm 25–75 IQR. ROC-analysis was used to assess sensitivity and specificity of candidate biomarker. $p < 0.05$ was considered significant.

Results and Discussion

There were no reliable differences between groups in main indexes, excluding CPIS (Fig. 2).

CCP in healthy donors. The CCP plasma content in healthy donors was 5,2 ng/ml (25–75 IQR 3.5–6.2 ng/ml). This CCP content represents the physiologic process of diffusion of CCP into the blood through the aerohematic barriers [20].

CCP in ARDS patients. There were no reliable differences in CCP between ARDS and no-ARDS groups. Therefore CCP is not informative as a biomarker of ARDS, but there are some data on it [21]. Taking into account the location of Club cells in lungs (not in the alveoli, but in the bronchiole) and their biological function (participation in inflammation and regeneration of bronchiolar epithelium, it is logical that CCP is more informative as a biomarker for NP, but not for ARDS. Surfactant proteins are of better perspective as ARDS molecular biomarkers [22–23].

CCP in NP patients. CCP plasma content was lower in all days in NP patients (Fig. 3), but it was higher than in healthy donors. There were also logical differences in CPIS scores (Fig. 2), body temperature on day 1 (38.5°C , 25–75 IQR 37.9 – 39.0°C vs. 38.0°C , 25–75

сут.): оценка по шкале APACHE II, физикальное обследование, оценка газов крови, центральной гемодинамики, общего анализа крови; рентгенография органов грудной клетки.

Анализ газового состава артериальной и смешанной венозной крови осуществляли на Bayer 865 Blood Gas Analyzer (Bayer, Германия). Общий анализ крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Advia 60 (Bayer, Германия). Параметры центральной гемодинамики и индекс внесосудистой воды легких измеряли по методике транспульмональной термодилуции с использованием модуля инвазивного мониторинга M1012A#C10 «Pulsion PiCCO Plus» (Pulsion Medical Systems, Германия). Для осуществления инвазивного мониторинга производили пункцию и катетеризацию бедренной артерии (набор PulsioCath PV2015L20 + PiCCO Monitoring kit 5 μ V/V/mmHg PV8115). Длительность нахождения катетера в бедренной артерии не превышала 10 сут. Промывание артериальной линии проводили периодическими болюсами физиологического раствора с добавлением гепарина 1 ЕД/мл. Перед первой калибровкой измеряли рост и вес больного с помощью кроватных электронных весов (Seca, Vogel&Halke, Германия). В качестве холодового индикатора использовали 15 мл физиологического раствора натрия хлорида t 0°C. При калибровке прибора выполняли три последовательных холодовых термодилуции. Калибровку прибора проводили 2 раза в сут. или чаще при нестабильном состоянии больного. Измеряли следующие параметры: частота сердечных сокращений (ЧСС), артериальное давление систолическое (АДсист), артериальное давление диастолическое (АДдиаст), артериальное давление среднее (АДср), центральное венозное давление (ЦВД), ударный объем (УО), сердечный выброс (СВ), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), глобальный конечно-диастолический объем (ГКДО), внутригрудной объем крови (ВГОК), внесосудистая вода легких (ВСВЛ) и соответствующие индексированные показатели, индекс проницаемости легочных сосудов (ИПЛС).

Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7.0. Использовали общепринятые математико-статистические методы расчета основных характеристик выборочных распределений: параметрические методы статистического анализа (Newman-Keuls тест), данные были представлены в виде медианы \pm 25–75 перцентилей (25–75 IQR). Для определения чувствительности и специфичности молекулярного кандидатного биомаркера был проведен ROC-анализ. Достоверным считалось различие при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По результатам анализа основных клинико-лабораторных признаков достоверных различий между группами и подгруппами выявлено не было, за исключением ожидаемых различий по уровню баллов по шкале CPIS между группами больных (рис. 2).

Содержание белка клеток Клара (CCP) у здоровых доноров. Медиана содержания CCP в плазме крови здоровых доноров составила 5,2 нг/мл (25–75 IQR 3,5–6,2 нг/мл). Содержание CCP в плазме здоровых доноров отражает, вероятно, физиологический процесс проникновения данного вещества в кровь через аэрогематический барьер, которое описано в ряде исследований [20].

Содержание CCP у больных ОРДС. Достоверных различий по содержанию CCP в плазме крови между подгруппами больных «ОРДС» и «НЕТ ОРДС» выявлено не было. Таким образом, в исследованной выборке больных CCP неинформативен в качестве биомаркера ОРДС, несмотря на то, что по данным ряда

IQR 37.7–38.5°C), leukocytosis on day 1 (20.5/mcl, 25–75 IQR 15.9–23.4/mcl vs. 18.0/mcl, 25–75 IQR 15.0–21.7/mcl). There were no more differences between groups.

Club cells are non-ciliated, mucus non-producing cells located in terminal bronchiole. They compose 15–20% of epitheliocytes in human lungs and up to 90% in mice lungs. Club cells secrete some biologically active substances which takes part in epithelial reparation, mucus degradation, inflammation regulation, xenobiotics detoxication. Club Cell Protein is a 16 kDa protein which expresses in some small amounts in prostate, thyroid, breast, epiphysis and uterus. The function of CCP is still not completely revealed. It inhibits phospholipase A2 and macrophages and neutrophils chemotaxis, modulate the activity of interferon- γ and tumor necrosis factor α . Mice deficient in CCP present a higher degree of inflammatory response to bacterial and viral infection, but the bacterial killing remained unchanged. Some investigations showed that CCP limits pulmonary inflammation [24–27].

CCP plasma content is elevated in chronic pulmonary diseases due to the destruction of Club cells, but it is much more elevated in acute lung diseases. CCP is widely discussed as a candidate molecular biomarker in ARDS and in NP [21, 29]. There are some investigations with small amount of patients with controversial results on the informativity of CCP for NP diagnosis [27–30]. Vanspauwen M. Et al. [9] did not prove CCP to be a biomarker of ventilator-associated pneumonia. But the data of this study was obtained out of bronchoalveolar lavage which is not comparable with our data (plasma).

Taking into account the biological role of Club cells and CCP, its elevation in plasma of critically ill patients without NP is caused by the activation of local immune system, proliferation of Club cells and decrease of CCP synthesis [21, 24–28].

CCP and *Pseudomonas aeruginosa*. It was confirmed that in patients in whom NP was caused by *Pseudomonas aeruginosa* (in association) CCP on days 1 and 3 was reliably lower than in patients with no *Pseudomonas aeruginosa* (Fig. 4).

ROC analysis (Fig. 5) confirmed a high diagnostic informativity of CCP in NP caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Club cell protein plasma content on the day of NP diagnosis \leq 17.5 ng/ml presents a sensitivity 86.5% and specificity 66.7% for NP diagnosis (AUC 0.74; 95% confidence interval 0.630–0.829; $p=0.0001$). Positive predictive value was 81.8%, negative predictive value – 74.1%. This it was shown that Club cell protein is a sensitive and specific candidate molecular biomarker of NP caused by *Pseudomonas aeruginosa*.

The investigated CCP decrease is caused not by the destruction of Club cells, but by the inhibition of its synthesis in Club cells. Our results are confirmed by some experimental studies which prove that *Pseudomonas aeruginosa* significantly inhibits the proximal part of CCP gene promoter in alveolocytes. This is mediated by

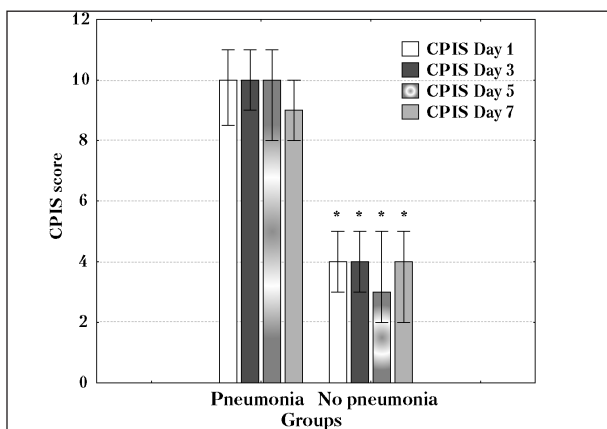


Рис. 2. Динамика баллов по шкале CPIS в группах больных.
Fig. 2. Dynamics of CPIS in group of patients.

Note (примечание): Clinical Pulmonary infection Score (CPIS) – шкала клинической оценки легочной инфекции. Here and in fig. 3, 4 (здесь и на рис. 3, 4): Pneumonia – пневмония; No pneumonia – нет пневмонии; groups – группы. * – reliability of differences between groups (достоверность различий между группами) (Newman-Keuls test, $P < 0.05$). Data are presented as median ± 25 –75 IQR (данные представлены в виде медианы ± 25 –75 перцентилей).

других исследований такая возможность существует [21]. Учитывая расположение клеток Клара в легких (бронхиола, а не альвеола), а также их биологическую функцию (участие в регуляции воспаления и регенерации бронхиолярного эпителия), логично предположить большую информативность ССР в отношении НП, а не ОРДС. Использование сурфактантных протеинов в качестве биомаркеров ОРДС обладает большим преимуществом по сравнению с белком клеток Клара, поскольку последний является более крупной молекулой, которая проникает в кровь на более поздних стадиях ОРДС, когда повреждение аэрогематического барьера больше и проницаемость выше [22–23].

Содержание ССР у больных нозокомиальной пневмонией. Содержание ССР в плазме больных НП было в течение 1, 3, 5 и 7 суток исследования ниже, чем у больных без НП (рис. 3). Содержание ССР в плазме больных НП и больных без НП было в течение всех суток исследования выше, чем у здоровых доноров (рис. 3). Также были зарегистрированы закономерные различия между группами больных по баллам по шкале CPIS (рис. 2), температуре в первые сутки исследования ($38,5^{\circ}\text{C}$, 25–75 IQR $37,9$ – $39,0^{\circ}\text{C}$ vs. $38,0^{\circ}\text{C}$, 25–75 IQR $37,7$ – $38,5^{\circ}\text{C}$), лейкоцитозу в первые сутки исследования (20,5 тыс./мкл, 25–75 IQR $15,9$ – $23,4$ тыс./мкл vs. 18,0 тыс./мкл, 25–75 IQR $15,0$ – $21,7$ тыс./мкл). Различий по другим показателям зарегистрировано не было.

Клетки Клара представляют собой безреснитчатые клетки, не продуцирующие слизь, расположенные в терминальных бронхиолах. В легких человека они составляют 15–20% эпителиоцитов, в то время как в легких мышей – 70–90%. Клетки Клара секретируют ряд биологически активных веществ, которые участвуют в защите и репарации бронхиолярного эпителия, деградации слизи, регуляции воспаления, детоксикации ксенобиотиков. Белок клеток Клара (Club Cell Protein,

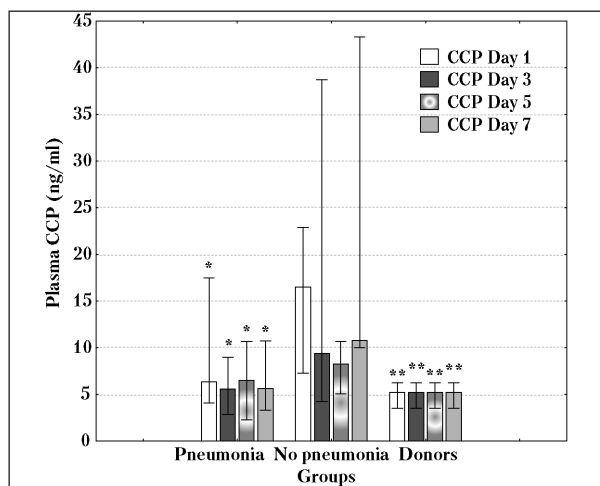


Рис. 3. Динамика содержания белка клеток Клара (ССР) в группах больных.
Fig. 3. CCP dynamics in groups of patients.

Note (примечание). Club Cell Protein (CCP) – белок клеток Клара (CCP); * – reliability of differences between groups «Pneumonia» and «No pneumonia» (достоверность различий между группами «Пневмония» и «Нет пневмонии») (Newman-Keuls test, $P < 0.05$). ** – reliability of differences in comparison to the controls (достоверность различий по сравнению с группой сравнения) (Newman-Keuls test, $p < 0,05$). Data are presented as median ± 25 –75 IQR (данные представлены в виде медианы ± 25 –75 перцентилей). Here and in fig. 4 (здесь и на рис. 4): donors – доноры; plasma – плазма; days – дни.

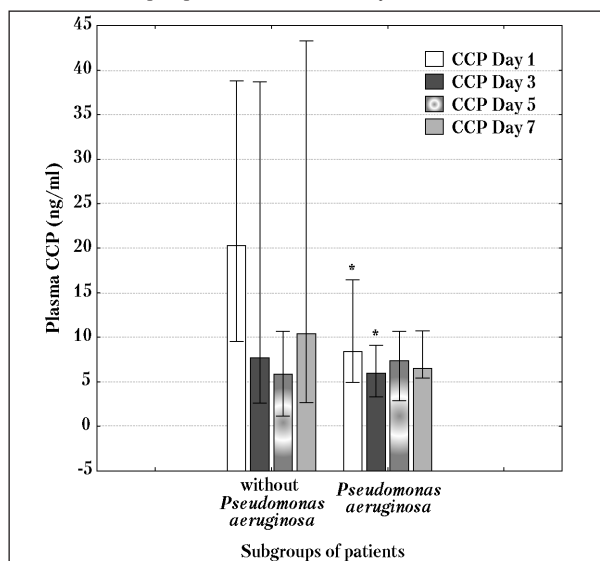


Рис. 4. Динамика содержания белка клеток Клара (ССР) в подгруппах больных в зависимости от характера возбудителя.
Fig. 4. CCP dynamics in subgroups of patients according to the type of microbe.

Note (примечание): subgroups of patients – подгруппы больных; * – reliable differences between groups (достоверность различий между группами) (Newman-Keuls test, $P < 0.05$). Data are presented as median ± 25 –75 IQR (данные представлены в виде медианы ± 25 –75 перцентилей).

pseudomonal tumour necrosis factor- α which is significantly elevated in plasma in pseudomonal infection. Harrod K. et al. showed that tumour necrosis factor- α neutralizing antibodies reverse this effect on CCP gene. Our investigation is the first clinical confirmation of these experimental data [31–33].

ССР) представляет собой протеин молекулярной массой 16 кДа. Белок клеток Клара также экспрессируется в незначительных количествах в простате, щитовидной железе, молочной железе, эпифизе, в беременной матке. В легких ССР является наиболее распространенным среди остальных протеинов внеклеточной жидкости. Функция белка клеток Клара до конца не ясна, но очевидно, что он играет важную роль в антиоксидантной и противовоспалительной защите легких. Его высвобождение ингибирует фосфолипазу А2 и хемотаксис макрофагов и нейтрофилов, модулирует активность интерферона-гамма и фактора некроза опухоли альфа. В *in vivo* исследованиях было показано, что у мышей, дефицитных по ССР, выраженность воспалительного ответа на бактериальную и вирусную инфекцию была больше, но киллинг бактерий в легких не изменялся. В ряде работ показано, что ССР ограничивает степень выраженности воспалительной реакции в легких [24–27].

Содержание ССР в плазме крови снижено при хронических заболеваниях легких вследствие деструкции клеток Клара, но значительно повышено при острых заболеваниях легких. Белок клеток Клара широко обсуждается в качестве кандидатного биомаркера как при ОРДС, так и при НП [21, 29]. Имеются отдельные исследования на небольших гетерогенных выборках больных и с противоречивыми результатами относительно информативности ССР в диагностике НП [27–30]. В исследовании Vansprauwen M. и соавт. [9] не были получены доказательства достаточной чувствительности и специфичности ССР для диагностики вентилятор-ассоциированной пневмонии. Но при анализе результатов данного исследования необходимо принимать во внимание то, что авторы исследовали содержание ССР в бронхоальвеолярном лаваже, забор которого не может быть стандартизован, что снижает достоверность последующего иммунологического анализа. В нашем исследовании в качестве биоматериала была выбрана плазма крови.

Учитывая биологическую функцию клеток Клара и ССР, повышение содержания ССР в плазме крови больных в критических состояниях без НП связано, вероятно, с активацией местной иммунной системы легких, пролиферацией клеток Клара, а также усилением синтеза ССР [21, 24–28].

Содержание ССР в плазме крови и *Pseudomonas aeruginosa*. Нами показано, что у больных, у которых НП была вызвана *Pseudomonas aeruginosa* (в ассоциации с другими возбудителями), содержание ССР в плазме крови в 1-е и 3-и сутки было значительно ниже, чем у больных без *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 4).

В результате проведенного ROC-анализа (рис. 5) были получены данные о высокой диагностической информативности содержания ССР в плазме крови в отношении диагностики НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*. Содержание ССР в первые сутки исследования $\leq 17,5$ нг/мл обладает чувствительностью 86,5% и специфичностью 66,7% в отношении диагностики НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* (площадь под кри-

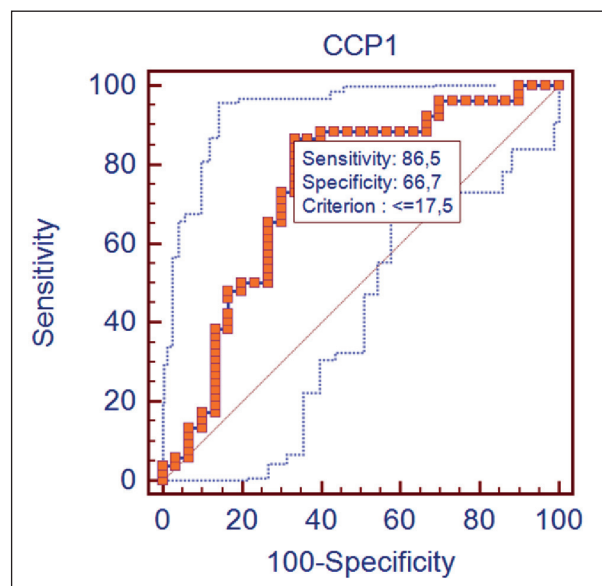


Рис. 5. Чувствительность и специфичность белка клеток Клара (ССР) в первые сутки исследования для диагностики нозокомиальной пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*.

Fig. 5. ROC analysis of clara cell protein (CCP) sensitivity and specificity in nosocomial pneumonia, caused by *Pseudomonas aeruginosa*.

Note (примечание). Sensitivity – чувствительность; specificity – специфичность; ССР – белок клеток Клара.

Conclusion

Dynamics of Club cell protein in NP patients was investigated. It was shown that Club cell protein is a sensitive and specific candidate molecular biomarker of NP caused by *Pseudomonas aeruginosa* – Club cell protein plasma content on the day of NP diagnosis ≤ 17.5 ng/ml presents a sensitivity 86.5% and specificity 66.7% for NP diagnosis.

вой 0,74; 95% доверительный интервал 0,630–0,829; $p=0,0001$). Прогностическая ценность положительного результата данного теста составила 81,8%, отрицательного результата – 74,1%. Таким образом, впервые была показана информативность белка клеток Клара в качестве диагностического кандидатного молекулярного биомаркера нозокомиальной пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*.

Описанное снижение содержания ССР в плазме крови больных НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, связано не с деструкцией клеток Клара, а со снижением синтеза ССР в клетках Клара. Результаты нашего исследования подтверждаются данными ряда экспериментальных работ, в которых показано, что *Pseudomonas aeruginosa* выраженно угнетает экспрессию проксимальной части промотора гена ССР в альвеолоцитах. Угнетение активности промотора данного гена вызвано главным образом ФНО- α , секретлируемым *Pseudomonas aeruginosa*. Известно, что инфекция легких, вызванная *Pseudomonas aeruginosa*, сопровождается значительным повышением содержания в плазме и мокроте ФНО- α , который в свою

очередь ингибирует синтез ССР в клетках Клара. В работе Harrod K. и соавт. показано, что нейтрализующие антитела против человеческого ФНО- α вызывают реверсию данного эффекта на промотор гена ССР. Наше исследование впервые подтвердило результаты данных экспериментальных исследований в клинике [31–33].

Выводы

Таким образом, изучена динамика содержания в плазме крови больных нозокомиальной пневмонией

белка клеток Клара. Впервые в данной категории больных показано, что белок клеток Клара информативен для диагностики нозокомиальной пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* — содержание в плазме крови ССР в день диагностики нозокомиальной пневмонии $\leq 17,5$ нг/мл обладает чувствительностью 86,5% и специфичностью 66,7% в отношении диагностики НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*.

Литература

1. Карпун Н.А., Мороз В.В., Климова Г.М., Акимкин В.Г., Журавлев А.Г., Колесник А.В. Профилактика нозокомиальных инфекций дыхательных путей. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (3): 100–104. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-3-100>
2. Голубев А.М., Мороз В.В., Сундуков Д.В. Патогенез острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 13–21. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-13>
3. Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Половников С.Г., Смеляя Т.В. Диагностика острого респираторного дистресс-синдрома при нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-6-5>
4. Чучалин А.Г. (ред.). Нозокомиальная пневмония у взрослых. Национальные рекомендации. М.; 2009.
5. Fagon J.Y. Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia: fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage is essential. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 27 (1): 34–44. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-933672>. PMID: 16508880
6. Torres A., Rello J. Update in community-acquired and nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181 (8): 782–787. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201001-0030UP>. PMID: 20382801
7. Croce M.A. Diagnosis of acute respiratory distress syndrome and differentiation from ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Surg.* 2000; 179 (2 Suppl 1): 26–29. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610\(00\)00319-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610(00)00319-6). PMID: 10874108
8. Fagon J.Y. Biological markers and diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care.* 2011; 15 (2): 130. <http://dx.doi.org/10.1186/cc10050>. PMID: 21418551
9. Vanspauwen M.J., Linszen C.F., Bruggeman C.A., Jacobs J.A., Drent M., Bergmans D.C., van Mook W.N. Clara cell protein in bronchoalveolar lavage fluid: a predictor of ventilator-associated pneumonia? *Crit. Care.* 2011; 15 (1): R14. <http://dx.doi.org/10.1186/cc9418>. PMID: 21223571
10. Johnston P., McAuley D.F., O’Kane C.M. Novel pulmonary biomarkers in the diagnosis of VAP. *Thorax.* 2010; 65 (3): 190–192. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2009.127308>. PMID: 20335284
11. Luyt C.E., Combes A., Reynaud C., Hekimian G., Nieszkońska A., Tonnelier M., Aubry A., Trouillet J.L., Bernard M., Chastre J. Usefulness of procalcitonin for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2008; 34 (8): 1434–1440. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-008-1112-x>. PMID: 18421435
12. Tang H., Huang T., Jing J., Shen H., Cui W. Effect of procalcitonin-guided treatment in patients with infections: a systematic review and meta-analysis. *Infection.* 2009; 37 (6): 497–507. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-009-9034-2>. PMID: 19826761
13. Póvoa P., Coelho L., Almeida E., Fernandes A., Mealha R., Moreira P., Sabino H. C-reactive protein as a marker of ventilator-associated pneumonia resolution: a pilot study. *Eur. Respir. J.* 2005; 25 (5): 804–812. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.05.00071704>. PMID: 15863636
14. Dufflo F., Debon R., Monneret G., Bienvenu J., Chassard D., Allaouchiche B. Alveolar and serum procalcitonin: diagnostic and prognostic value in ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology.* 2002; 96 (1): 74–79. <http://dx.doi.org/10.1097/0000542-200201000-00018>. PMID: 11753005
15. Gibot S., Cravoisy A. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin. Med. Res.* 2004; 2 (3): 181–187. <http://dx.doi.org/10.3121/cm.2.3.181>. PMID: 15931355
16. Determann R.M., Millo J.L., Gibot S., Korevaar J.C., Vroom M.B., van der Poll T., Garrard C.S., Schultz M.J. Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of

References

1. Karpun N.A., Moroz V.V., Klimova G.M., Akimkin V.G., Zhuravlev A.G., Kolesnik A.V. Profilaktika nozokomialnykh infektsii dykhatelnykh putei. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2007; 3 (3): 100–104. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-3-100>. [In Russ.]
2. Golubev A.M., Moroz V.V., Sundukov D.V. Patogenez ostrogo respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 13–21. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-13>. [In Russ.]
3. Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Polovnikov S.G., Smelaya T.V. Diagnostika ostrogo respiratornogo distress-sindroma pri nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Diagnosis of acute respiratory distress syndrome in nosocomial pneumonia. *General Reanimatology*]. 2009; 5 (6): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-6-5>. [In Russ.]
4. Chuchalin A.G. (red.). Nozokomialnaya pnevmoniya u vzroslykh. Natsionalnye rekomendatsii. [Adult-onset pneumonia. National guidelines]. Moscow; 2009. [In Russ.]
5. Fagon J.Y. Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia: fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage is essential. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 27 (1): 34–44. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-933672>. PMID: 16508880
6. Torres A., Rello J. Update in community-acquired and nosocomial pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181 (8): 782–787. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201001-0030UP>. PMID: 20382801
7. Croce M.A. Diagnosis of acute respiratory distress syndrome and differentiation from ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Surg.* 2000; 179 (2 Suppl 1): 26–29. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610\(00\)00319-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610(00)00319-6). PMID: 10874108
8. Fagon J.Y. Biological markers and diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care.* 2011; 15 (2): 130. <http://dx.doi.org/10.1186/cc10050>. PMID: 21418551
9. Vanspauwen M.J., Linszen C.F., Bruggeman C.A., Jacobs J.A., Drent M., Bergmans D.C., van Mook W.N. Clara cell protein in bronchoalveolar lavage fluid: a predictor of ventilator-associated pneumonia? *Crit. Care.* 2011; 15 (1): R14. <http://dx.doi.org/10.1186/cc9418>. PMID: 21223571
10. Johnston P., McAuley D.F., O’Kane C.M. Novel pulmonary biomarkers in the diagnosis of VAP. *Thorax.* 2010; 65 (3): 190–192. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.2009.127308>. PMID: 20335284
11. Luyt C.E., Combes A., Reynaud C., Hekimian G., Nieszkońska A., Tonnelier M., Aubry A., Trouillet J.L., Bernard M., Chastre J. Usefulness of procalcitonin for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2008; 34 (8): 1434–1440. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-008-1112-x>. PMID: 18421435
12. Tang H., Huang T., Jing J., Shen H., Cui W. Effect of procalcitonin-guided treatment in patients with infections: a systematic review and meta-analysis. *Infection.* 2009; 37 (6): 497–507. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-009-9034-2>. PMID: 19826761
13. Póvoa P., Coelho L., Almeida E., Fernandes A., Mealha R., Moreira P., Sabino H. C-reactive protein as a marker of ventilator-associated pneumonia resolution: a pilot study. *Eur. Respir. J.* 2005; 25 (5): 804–812. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.05.00071704>. PMID: 15863636
14. Dufflo F., Debon R., Monneret G., Bienvenu J., Chassard D., Allaouchiche B. Alveolar and serum procalcitonin: diagnostic and prognostic value in ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology.* 2002; 96 (1): 74–79. <http://dx.doi.org/10.1097/0000542-200201000-00018>. PMID: 11753005
15. Gibot S., Cravoisy A. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin. Med. Res.* 2004; 2 (3): 181–187. <http://dx.doi.org/10.3121/cm.2.3.181>. PMID: 15931355

- ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2005; 31 (11): 1495–1500. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-005-2818-7>. PMID: 16195904
17. *Oppert M., Reinicke A., Müller C., Barckow D., Frei U., Eckardt K.* Elevations in procalcitonin but not C-reactive protein are associated with pneumonia after cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation.* 2002; 53 (2): 167–170. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(02\)00008-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(02)00008-4). PMID: 12009220
 18. *Мороз В.В. (ред.).* Острый респираторный дистресс-синдром: классификация, диагностика, дифференцированное лечение. Учебно-методическое пособие. М.: НИИОР РАМН; 2013: 99.
 19. *Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Половников С.Г.* Ингаляционные антибиотики в лечении нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (6): 61–70. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-61>
 20. *Bernard A., Marchandise F.X., Depelchin S., Lauwerys R., Sibille Y.* Clara cell protein in serum and bronchoalveolar lavage. *Eur. Respir. J.* 1992; 5 (10): 1231–1238. PMID: 1486970
 21. *Kropfski J.A., Fremont R.D., Calfee C.S., Ware L.B.* Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. *Chest.* 2009; 135 (6): 1440–1447. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.08-2465>. PMID: 19188556
 22. *Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М., Шабанов А.К., Голубев М.А.* Сурфактантный протеин D – биомаркер острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (4): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-4-11>
 23. *Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М., Половников С.Г., Шабанов А.К., Голубев М.А.* Сурфактантный протеин А (SP-A) – прогностический молекулярный биомаркер при остром респираторном дистресс-синдроме. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>
 24. *Harrod K.S., Mounday A.D., Stripp B.R., Whitsett J.A.* Clara cell secretory protein decreases lung inflammation after acute virus infection. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 1998; 275 (5 Pt 1): L924–L930. PMID: 9815110
 25. *Yao X.L., Levine S.J., Cowan M.J., Logun C., Shelhamer J.H.* Tumor necrosis factor-alpha stimulates human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998; 19 (4): 629–635. PMID: 9761760
 26. *Johnston C.J., Mango G.W., Finkelstein J.N., Stripp B.R.* Altered pulmonary response to hyperoxia in Clara cell secretory protein deficient mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997; 17 (2): 147–155. <http://dx.doi.org/10.1165/ajrcmb.17.2.2676>. PMID: 9271302
 27. *Lakind J.S., Holgate S.T., Ownby D.R., Mansur A.H., Helms P.J., Pyatt D., Hays S.M.* A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers.* 2007; 12 (5): 445–467. <http://dx.doi.org/10.1080/13547500701359327>. PMID: 17701745
 28. *Broeckaert F., Clippe A., Knoop B., Hermans C., Bernard A.* Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 923: 68–77. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05520.x>. PMID: 11193780
 29. *Determann R., Millo J., Waddy S., Lutter R., Garrard C., Schultz M.* Plasma CC16 levels are associated with development of ALI/ARDS in patients with ventilator-associated pneumonia: a retrospective observational study. *BMC Pulm. Med.* 2009; 9: 49. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2466-9-49>. PMID: 19958527
 30. *Cowan M., Huang X., Yao X.L., Shelhamer J.H.* Tumor necrosis factor alpha stimulation of human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 923: 193–201. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05530.x>. PMID: 11193757
 31. *Harrod K., Mounday A., Whitsett J.* Adenoviral E3–14.7K protein in LPS-induced lung inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2000; 278 (4): L631–L639. PMID: 10749739
 32. *Hayashida S., Harrod K., Whitsett J.* Regulation and function of CCSP during pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection *in vivo*. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2000; 279 (3): L452–L459. PMID: 10956619
 33. *Harrod K.S., Jaramillo R.J.* *Pseudomonas aeruginosa* and tumor necrosis factor-alpha attenuate Clara cell secretory protein promoter function. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2002; 26 (2): 216–223. PMID: 11804873
 16. *Determann R.M., Millo J.L., Gibot S., Korevaar J.C., Vroom M.B., van der Poll T., Garrard C.S., Schultz M.J.* Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2005; 31 (11): 1495–1500. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-005-2818-7>. PMID: 16195904
 17. *Oppert M., Reinicke A., Müller C., Barckow D., Frei U., Eckardt K.* Elevations in procalcitonin but not C-reactive protein are associated with pneumonia after cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation.* 2002; 53 (2): 167–170. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(02\)00008-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(02)00008-4). PMID: 12009220
 18. *Moroz V.V. (red.).* Ostryi respiratornyi distress-sindrom: klassifikatsiya, diagnostika, differentsirovannoe lechenie. Uchebno-metodicheskoe posobie. [Acute respiratory distress syndrome: Classification, diagnosis, differentiated treatment. Guidance manual]. Moscow: NIOR RAMN; 2013: 99. [In Russ.]
 19. *Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Polovnikov S.G.* Ingalyatsionnye antibiotiki v lechenii nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Inhaled antibiotics in the treatment of nosocomial pneumonia. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (6): 61–70. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-61>. [In Russ.]
 20. *Bernard A., Marchandise F.X., Depelchin S., Lauwerys R., Sibille Y.* Clara cell protein in serum and bronchoalveolar lavage. *Eur. Respir. J.* 1992; 5 (10): 1231–1238. PMID: 1486970
 21. *Kropfski J.A., Fremont R.D., Calfee C.S., Ware L.B.* Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. *Chest.* 2009; 135 (6): 1440–1447. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.08-2465>. PMID: 19188556
 22. *Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M., Shabanov A.K., Golubev M.A.* Surfaktantnyi protein D – biomarker ostrogo respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Surfactant protein D is a biomarker of acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (4): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-4-11>. [In Russ.]
 23. *Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M., Polovnikov S.G., Shabanov A.K., Golubev M.A.* Surfaktantnyi protein A (SP-A) – prognosticheskiy molekulyarniy biomarker pri ostrom respiratornom distress-sindrome. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Surfactant protein A (SP-A) is a prognostic molecular biomarker in acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>. [In Russ.]
 24. *Harrod K.S., Mounday A.D., Stripp B.R., Whitsett J.A.* Clara cell secretory protein decreases lung inflammation after acute virus infection. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 1998; 275 (5 Pt 1): L924–L930. PMID: 9815110
 25. *Yao X.L., Levine S.J., Cowan M.J., Logun C., Shelhamer J.H.* Tumor necrosis factor-alpha stimulates human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998; 19 (4): 629–635. PMID: 9761760
 26. *Johnston C.J., Mango G.W., Finkelstein J.N., Stripp B.R.* Altered pulmonary response to hyperoxia in Clara cell secretory protein deficient mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997; 17 (2): 147–155. <http://dx.doi.org/10.1165/ajrcmb.17.2.2676>. PMID: 9271302
 27. *Lakind J.S., Holgate S.T., Ownby D.R., Mansur A.H., Helms P.J., Pyatt D., Hays S.M.* A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers.* 2007; 12 (5): 445–467. <http://dx.doi.org/10.1080/13547500701359327>. PMID: 17701745
 28. *Broeckaert F., Clippe A., Knoop B., Hermans C., Bernard A.* Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 923: 68–77. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05520.x>. PMID: 11193780
 29. *Determann R., Millo J., Waddy S., Lutter R., Garrard C., Schultz M.* Plasma CC16 levels are associated with development of ALI/ARDS in patients with ventilator-associated pneumonia: a retrospective observational study. *BMC Pulm. Med.* 2009; 9: 49. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2466-9-49>. PMID: 19958527
 30. *Cowan M., Huang X., Yao X.L., Shelhamer J.H.* Tumor necrosis factor alpha stimulation of human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 923: 193–201. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05530.x>. PMID: 11193757
 31. *Harrod K., Mounday A., Whitsett J.* Adenoviral E3–14.7K protein in LPS-induced lung inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2000; 278 (4): L631–L639. PMID: 10749739
 32. *Hayashida S., Harrod K., Whitsett J.* Regulation and function of CCSP during pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection *in vivo*. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2000; 279 (3): L452–L459. PMID: 10956619
 33. *Harrod K.S., Jaramillo R.J.* *Pseudomonas aeruginosa* and tumor necrosis factor-alpha attenuate Clara cell secretory protein promoter function. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2002; 26 (2): 216–223. PMID: 11804873

Поступила 02.06.14

Submitted 02.06.14