

ДИНАМИКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ НА ЭТАПАХ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

В.А. Валеева, Е.И. Стрельцова, А.В. Ефремов

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития (г. Новосибирск)*

Проведен сравнительный анализ лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), экспресс-теста РСТ, концентрации С-реактивного белка (СРБ) и интерлейкинов в сыворотке крови у больных с перитонитом/абдоминальным сепсисом на этапах интенсивной терапии. Исследованы уровни СРБ, IL-1 β , IL-1 Ra, ФНО в первые, третьи и седьмые сутки после проведения экстренного хирургического вмешательства. Выявлено резкое повышение ЛИИ и концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , ФНО- α в первые сутки заболевания и их постепенное снижение к седьмым суткам наблюдения. Содержание рецепторного антагониста к IL-1 в сыворотке крови медленно нарастало к седьмым суткам, оставаясь в диапазоне нормальных популяционных значений. На основании проведенных исследований сделан вывод, что для достоверной ранней диагностики необходимо применять сочетание нескольких диагностических тестов.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, ЛИИ, интерлейкины, IL-1 β , IL-1 Ra, ФНО- α , прокальцитонин (РСТ), С-реактивный белок (СРБ)

Валеева Влада Арнольдовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития, e-mail: vavaleeva@mail.ru

Стрельцова Елена Ивановна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития, зав. отделением реанимации ГБУЗ НСО «Государственная новосибирская областная клиническая больница», e-mail: eistreltsova@mail.ru

Ефремов Анатолий Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий кафедрой патологической физиологии и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития, телефон рабочий: 8 (383) 225-39-78

Несмотря на использование новых принципов и методов лечения, синдром системной воспалительной реакции (СВР) и сепсис по-прежнему считаются в мировой литературе актуальнейшей проблемой современной медицины. На фоне неуклонного повышения количества инвазивных диагностических и лечебных процедур, роста числа больных, в том числе, пожилого и старческого возраста, инфекционные осложнения и сепсис продолжают занимать первое место в структуре общей смертности больных отделения интенсивной терапии, приводя к стабильно высокой летальности.

Основу современной классификации и терминологии сепсиса составляют определения, предложенные на согласительной конференции Американского Общества Пульмонологов и Реаниматологов (ACCP/SCCM) в 1992 г., которые были частично изменены в 2004 г. в связи с появлением международного движения *Пережить сепсис* (Surviving Sepsis Campaign – SSC).

СВР рассматривается большинством исследователей как типовой патологический процесс, развивающийся при воздействии множества стимулов, а в особенности при их сочетании. И важнейшим из них считают ишемию тканей вследствие гиповолемии и гипоперфузии после кровопотери, стресса, манипуляций в жизнеопасных зонах, использования анестетиков с гипотензивным эффектом, анафилактических реакций, кардиогенного шока и др.

При СВР возникает мощная активация фагоцитов – макрофагов/моноцитов, гранулоцитов и других иммунокомпетентных клеток, что приводит к повышенной генерации свободных радикалов, системы комплемента, интерлейкинов, протеиназ, дериватов арахидоновой кислоты провоспалительного действия, активации свертывающей системы крови [5].

Ведущее значение в развитии системного воспаления любой этиологии имеют интерлейкины – индукторы и регуляторы иммунного ответа. Вне воспалительной реакции и иммунного ответа цитокины в крови содержатся в чрезвычайно малом количестве. Усиленный синтез цитокинов начинается в ответ на проникновение в организм микроорганизмов или повреждение тканей [4]. В зависимости от характера воздействия на воспалительный процесс цитокины подразделяют на две большие группы: провоспалительные (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ) и противовоспалительные (IL-4, IL-10, TGF β) [1], хотя это деление во многом условно.

Создание стройной, патогенетически обоснованной концепции СВР/сепсиса, совершенствование научных методов, внедрение их в клиническую практику существенно, качественно изменили лечение инфекционных осложнений. Но ранняя и надежная диагностика сепсиса при отсутствии специфических клинических симптомов часто бывает осложнена. Нерешенным остается главный вопрос – дифференцирование между инфекционной и другими причинами СВР, такими как травма, хроническое воспаление и аутоиммунные заболевания.

Критерии СВР, число лейкоцитов, тромбоцитов, скорость оседания эритроцитов, качественные пробы на наличие воспалительного процесса, являясь неспецифическими показателями, часто могут стать причиной неверной диагностики остро возникшего осложнения. Более точную, на наш взгляд, информацию при интерпретации этих данных дает известный всем клиницистам индекс лейкоцитарной интоксикации (ЛИИ), предложенный Я. Я. Кальф-Калифом в 1941 г. для оценки тяжести токсикоза, и его последующие модификации.

Бактериологические исследования крови высоко специфичны при диагностике сепсиса, но их чувствительность составляет всего лишь 25–42 % [5]. Положительные бактериологические результаты могут быть вызваны контаминацией, в то время как отрицательные результаты не исключают сепсиса.

В этой связи усилия многих исследователей направлены на поиск высокоспецифичных, чувствительных и доступных маркеров, позволяющих врачу быстро принять решение и произвести контроль эффективности терапии.

Одним из таких маркеров, без сомнения, является прокальцитонин (РСТ), так как обладает высокой специфичностью и чувствительностью. Однако используемый в клиниках полуколичественный экспресс-тест РСТ не всегда показывает результаты, идентичные полученным с помощью высокочувствительных, но, к сожалению, малодоступных количественных методов [8].

Другим привлекающим внимание маркером СВР/сепсиса многие исследователи считают современные методы количественного определения С-реактивного белка (СРБ), традиционного маркера воспаления. Принято считать, что именно при бактериальной инфекции наблюдаются самые высокие уровни СРБ (100 мг/л и выше), а дальнейшая динамика концентрации этого показателя позволяет судить об эффективности лечения.

Целью нашего исследования было сравнение динамики маркеров сепсиса в плазме крови больных с СВР/сепсисом на этапах интенсивной терапии острой патологии органов желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. Нами были обследованы 37 больных (21 мужчин, 16 женщин) в возрасте от 20 до 70 лет с диагнозом перитонит/абдоминальный сепсис различной этиологии, подтвержденным интраоперационно. Диагноз сепсиса выставлялся на основании совокупности операционных данных, посевов и наличия признаков СВР по рекомендациям, предложенным в 1992 г. согласительной конференцией Американского колледжа пульмонологов (АССР) и Общества специалистов критической медицины (SCCM) [4]. Всем больным после экстренного оперативного вмешательства проводилась стандартная терапия в ОРИТ по рекомендациям международного протокола лечения сепсиса/ СВР.

Критерием исключения в группе были возраст старше 70 лет, онкологические заболевания, туберкулез, ХСН 3 степени, тяжелая ХПН. Всем пациентам было обеспечено анестезиологическое пособие на основе тотальной внутривенной или ингаляционной анестезии.

Уровень прокальцитонина в сыворотке крови определяли в первые сутки с помощью полуколичественного иммунохроматографического анализа «Прокальцитонин Экспресс-Тест»(BRAHMS PCT-Q).

Исследование для оценки уровней ФНО- α , IL-1 β и рецепторного антагониста интерлейкина-1 – (IL1-Ra) в сыворотке крови проводили в первые сутки, на третьи и седьмые сутки заболевания (первый, второй и третий этапы исследования соответственно). Использовали твердофазный иммуноферментный метод с помощью тест-систем (ООО «Цитокин», СПб.) в соответствии с рекомендациями производителя.

Количественное определение СРБ выполняли в первые сутки, на третьи и седьмые сутки заболевания с использованием твердофазного иммуноферментного метода и тест-систем различных производителей (Nycocard CRP, «СРБ-ИФА-Бест»).

Лейкоцитарный индекс интоксикации определяли по методу Я. Я. Кальф-Калифом в первые сутки, на третьи и седьмые сутки исследования.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6 for Windows с использованием t-критерия Стьюдента и линейного коэффициента корреляции (r).

Результаты. ЛИИ в первые сутки исследования был повышен у 100 % больных и составил в среднем $9,615 \pm 1,037$ у. е. (норма до $1,6 \pm 0,5$ у. е.). Интересно отметить, что лейкоцитоз $> 8,0 \times 10^9$ /мл в первые сутки заболевания регистрировался у 81 % больных, а содержание лейкоцитов $> 12 \times 10^9$ /мл (диагностический критерий СВР по АССР/SCCM) только у 72 % пациентов. Количество незрелых форм нейтрофилов > 10 % (также диагностический критерий СВР по АССР/SCCM) отмечен нами у 63 % на первом этапе. В дальнейшем наблюдалось постепенное снижение показателей ЛИИ: $6,44 \pm 0,74$ у. е. на втором этапе исследования ($p \leq 0,01$) и $3,96 \pm 0,433$ ($p \leq 0,001$) на третьем этапе исследования (табл. 1).

Значения полуколичественного прокальцитонинового теста в первые сутки у больных с абдоминальным сепсисом распределились следующим образом: РСТ $\leq 0,5$ нг/мл имели 10,2 % пациентов, РСТ $\geq 0,5$ нг/мл – 25,8 %, РСТ ≥ 2 нг/мл – 21,7 %, РСТ ≥ 10 нг/мл – 42,3 %. Таким образом, принимая распространенное среди экспертов мнение, что уровни РСТ от 0,5 до 2 нг/мл находятся в «серой зоне», в которой диагноз сепсиса с уверенностью поставить нельзя (известно большое число состояний, также индуцирующих РСТ), и только уровень прокальцитонина выше 2 нг/мл с высокой вероятностью свидетельствует об инфекционном процессе с системным воспалением [3, 10], мы расценили как достоверное повышение концентрации РСТ у 64 % наших больных.

В то же время концентрация СРБ (нормальные значения – 0–6 мг/л) была повышена в первые сутки наблюдения у 100 % больных с абдоминальным сепсисом (табл. 1). При этом у 10,7 % пациентов определялись значения СРБ < 30 мг/л. Уровень СРБ в диапазоне 30–100 мг/л был отмечен у 7,1 % больных. 35,7 % обследованных имели концентрацию СРБ в сыворотке крови от 100 до 200 мг/л, а 46,5 % больных – выше 200 мг/л. В целом, у 82,2 % больных регистрировался уровень СРБ выше 100 мг/л, который, как считается, характерен для бактериальных инфекций [6, 7].

Таблица 1

**Динамика изменений содержания СРБ и ЛИИ
в сыворотке крови у больных с абдоминальным сепсисом
(n = 37) на этапах исследования (M $\pm$ m)**

Период наблюдения	СРБ (мг/л)	ЛИИ (у. е.)
1-е сутки	$185,03 \pm 16,26^{***}$	$9,615 \pm 1,037^{*,***}$
3-и сутки	$165,50 \pm 16,01$	$6,44 \pm 0,74$ у.е. **
7-е сутки	$120,94 \pm 15,57$	$3,96 \pm 0,433$

Примечание: отличия достоверны ($p \leq 0,05$ – $0,001$)

* – между первым и вторым этапом исследования;

** – между вторым и третьим этапом исследования;

*** – между первым и третьим этапом исследования.

В дальнейшем отмечалось умеренное снижение показателей СРБ у больных на этапах лечения, которое достигало достоверных значений к пятым-седьмым суткам.

Уровень ФНО- α в острую фазу заболевания был значительно повышен (табл. 2). В первые сутки этот показатель равнялся $159,77 \pm 19,39$ пг/мл (диапазон концентраций ФНО- α у доноров составил 0–6 пг/мл, среднее – 1,5 пг/мл) [2]. К третьим суткам содержание исследуемого интерлейкина снижалось по сравнению с первым этапом в 1,7 раз до $93,84 \pm 12,07$ пг/мл ($p \leq 0,001$), а к седьмым – в 5 раз ($32,29 \pm 5,84$ пг/мл ($p \leq 0,001$)).

Также отмечался выраженный рост концентрации IL-1 β , составивший в первые сутки $201,79 \pm 27,4$ пг/мл. К третьим суткам содержание IL-1 β в плазме крови снижалось до $113,08 \pm 19,5$ пг/мл ($p \leq 0,01$). На седьмые сутки наблюдения уровень исследуемого цитокина снизился в 4,4 раза от исходного и составил $45,07 \pm 7,6$ пг/мл ($p \leq 0,001$ по сравнению с первым этапом, $p \leq 0,001$ по сравнению со вторым этапом), но, несмотря на выраженное снижение, оставался намного выше, чем у доноров (14–16 пг/мл, по литературным данным) [2].

Изменение содержания противовоспалительного антагониста IL1-Ra позволило выявить обратную динамику. Так, в первые сутки уровень IL1-Ra у пациентов с перитонитом составил $306,05 \pm 31,9$ пг/мл и к седьмым суткам концентрация показателя выросла до $388,04 \pm 33,9$ пг/мл ($p \leq 0,05$). В норме диапазон содержания IL1-Ra – 50–1000 пг/мл. Интересно отметить, что у некоторых больных ($n = 6$, из них трое умерших) уровень антагониста IL1-Ra изначально был необычайно высоким (1000–6000 пг/мл), и в дальнейшем содержание антагониста в этой группе прогрессивно снижалось.

Таблица 2

**Динамика изменений содержания интерлейкинов
в сыворотке крови у больных с абдоминальным сепсисом
($n = 37$) на этапах исследования ($M \pm m$)**

Период наблюдения	IL-1 β (пг/мл)	IL-1Ra (пг/мл)	ФНО- α (пг/мл)
1-е сутки	$201,79 \pm 27,4^*, ***$	$306,05 \pm 31,9^{***}$	$159,77 \pm 19,39^*, ***$
3-и сутки	$113,08 \pm 19,5^{**}$	$390,1 \pm 56,2$	$93,84 \pm 12,07^{**}$
7-е сутки	$45,07 \pm 7,6$	$388,04 \pm 33,9$	$32,29 \pm 5,84$

Анализируя изменения интерлейкинов, мы выявили высокую степень корреляционной зависимости между провоспалительными цитокинами на всех этапах исследования. Так, выявлена прямая корреляционная зависимость между ФНО- α и IL-1 β в первые сутки заболевания ($r = 0,989$, $p \leq 0,05$), на третьи ($r = 0,978$, $p \leq 0,05$) и седьмые сутки исследования ($r = 0,972$, $p \leq 0,05$). В то же время нам не удалось выявить корреляционной зависимости между другими маркерами сепсиса, несмотря на явно однонаправленные изменения их содержания под влиянием проводимой терапии. Продукция IL-1 β также не коррелировала с концентрацией противовоспалительного антагониста IL1-Ra ($r = -0,219$). Возможно, это связано с тем, что нас изначально интересовал общепопуляционный ответ организма на действие повреждающего фактора инфекционной природы, и мы не проводили строгое ранжирование по полу, возрасту, диагнозу, балльной тяжести заболевания и др. В дальнейшем при наборе материала мы планируем проведение подобного анализа.

Наше исследование показало высокую степень вариабельности изменений клинических и лабораторных маркеров СБР/сепсиса у больных, связанную, по всей

видимости, с исходным иммунологическим состоянием, возрастом, наличием сопутствующих заболеваний и др. Оценка гематологических индексов, и в частности ЛИИ, более информативна, чем изучение простой гемограммы. Она позволяет раньше оценить развитие, тяжесть, течение воспалительного процесса и эндогенной интоксикации, оценить эффективность проводимой терапии и определить стратегию дальнейшей коррекции лечения для достижения максимального (благополучного) эффекта.

В целом, ни один из исследуемых показателей не может считаться «идеальным» маркером, поскольку каждый отражает различные патогенетические звенья системной воспалительной реакции и сепсиса. Для ранней дифференциальной диагностики сепсиса и контроля за терапией следует применять сочетание нескольких диагностических тестов (например, ЛИИ, экспресс-тест РСТ, ФНО- α и/или СРБ в сыворотке крови) с учетом их разной чувствительности и специфичности.

Список литературы

1. Михайленко А. А. Руководство по клинической иммунологии, аллергологии, иммуногенетике и иммуннофармакологии / А. А. Михайленко [и др.]. – М., Тверь, 2005. – Т. 1.
2. Рябичева Т. Г. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа / Т. Г. Рябичева [и др.] // Новости «Вектор-Бест». – 2004. – N 4 (34).
3. Becker K. L. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis : clinical utility and limitations / K. L. Becker [et al.] // Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 36 (3). – P. 941–952.
4. Bone R. C. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine / R. C. Bone [et al.] // Chest. – 1992. – Vol. 101. – P. 1644–55.
5. Fisher C. J. Influence of an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. The CB0006 Sepsis Syndrome Study Group / C. J. Fisher [et al.] // Crit. Care Med. – 1993. – Vol. 21. – P. 318–27.
6. Flanders S. A. Performance of a bedside C-reactive protein test in the diagnosis of community-acquired pneumonia in adults with acute cough / S. A. Flanders [et al.] // Am. J. Med. – 2004. – Vol. 116. – P. 529–535.
7. Flood R. G. The utility of serum C-reactive protein in differentiating bacterial from nonbacterial pneumonia in children : a meta-analysis of 1230 children / R. G. Flood [et al.] // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2008. – Vol. 27. – P. 95–99.
8. Korczowski B. Two diagnostic assays for serum procalcitonin measurement in clinical Practice / B. Korczowski [et al.] // Przegl Lek. – 2003. – Vol. 60 (5). – P. 345–348.
9. Marshall J. C. Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25–26, 2000 / J. C. Marshall [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31. – P. 1560–7.
10. Muller B. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in medical intensive care unit / B. Muller [et al.] // Crit. Care Med. – 2000. – Vol. 28. – P. 977–983.

DYNAMICS OF DIAGNOSTIC MARKERS AT STAGES OF TREATMENT OF PATIENTS WITH ABDOMINAL SEPSIS

V.A. Valeeva, E.I. Streltsova, A.V. Efremov

SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (c. Novosibirsk)

It was carried out the comparative analysis of a intoxication leucocytes index of (ЛИИ), express test PST, concentration of S-jet protein (CSP) and interleukins in blood serum at patients with a peritonitis/abdominalnym sepsis at intensive care stages. Levels of CSP, IL-1 β , IL-1 Ra, TNF in the first, third and seventh days after carrying out of emergency surgical intervention are investigated. Sharp rising of ILI and concentration of proinflammatory cytokines IL-1 β , the TNF — α in the first days of disease and their gradual depression by seventh days of observation is taped. The maintenance of the receptor antagonist to IL-1 in blood serum slowly accrued by seventh days, remaining in a range of normal population value. On the basis of the researches the conclusion is drawn that it is necessary to apply a combination of several trouble-shooting tests to authentic early diagnostics.

Keywords: abdominal sepsis, ILI, interleukins, IL-1 β , IL-1 Ra, TNF — α , procalcitonin (PST), S-jet protein (SJP)

About authors:

Valeeva Vlada Arnoldovna — candidate of medical sciences, assistant professor of anesthesiology and resuscitation chair FAT and CE at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: vavaleeva@mail.ru

Streltsova Elena Ivanovna — candidate of medical sciences, assistant professor of anesthesiology and resuscitation chair FAT and CE at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», head of resuscitation unit of SBEH ND " Novosibirsk State Clinical Hospital", e-mail: eistreltsova@mail.ru

Efremov Anatoly Vasilevich — doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the Russian Academy of Medical Science head of pathological physiology and a clinical pathophysiology chair of SEI HPE "Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment«,work phone: 8(383) 225-39-78

List of the Literature:

1. Mikhailenko A. A. Guidance on clinical immunology, allergology, immunogenetics and immunopharmacology / A.A.Mikhajlenko [etc.]. — M, Tver, 2005. — V. 1.
2. Ryabicheva T. G. Definition of cytokines by an enzyme immunoassay method / T. G. Rjabicheva [etc.] // News «Vector-best». — 2004. — N 4. (34).

3. Becker K. L. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis : clinical utility and limitations / K. L. Becker [et al.] // Crit. Care Med. — 2008. — Vol. 36 (3). — P. 941–952.
4. Bone R. C. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine / R. C. Bone [et al.] // Chest. — 1992. — Vol. 101. — P. 1644–55.
5. Fisher C. J. Influence of an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. The CB0006 Sepsis Syndrome Study Group / C. J. Fisher [et al.] // Crit. Care Med. — 1993. — Vol. 21. — P. 318–27.
6. Flanders S. A. Performance of a bedside C-reactive protein test in the diagnosis of community-acquired pneumonia in adults with acute cough / S. A. Flanders [et al.] // Am. J. Med. — 2004. — Vol. 116. — P. 529–535.
7. Flood R. G. The utility of serum C-reactive protein in differentiating bacterial from nonbacterial pneumonia in children : a meta-analysis of 1230 children / R. G. Flood [et al.] // Pediatr. Infect. Dis. J. — 2008. — Vol. 27. — P. 95–99.
8. Korczowski B. Two diagnostic assays for serum procalcitonin measurement in clinical Practice / B. Korczowski [et al.] // Przegl Lek. — 2003. — Vol. 60 (5). — P. 345–348.
9. Marshall J. C. Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25–26, 2000 / J. C. Marshall [et al.] // Crit. Care Med. — 2003. — Vol. 31. — P. 1560–7.
10. Muller B. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in medical intensive care unit / B. Muller [et al.] // Crit. Care Med. — 2000. — Vol. 28. — P. 977–983.