

© Н.А.Бархатова, 2009
УДК 616.157-07:612.015.348

Н.А.Бархатова

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА, ОЛИГОПЕПТИДОВ И ЛАКТОФЕРРИНА КРОВИ КАК МЕТОД РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО СЕПСИСА

Кафедра общей хирургии (зав. — проф. В.А.Привалов) ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» Росздрава

Ключевые слова: С-реактивный белок, олигопептиды, лактоферрин, синдром системной воспалительной реакции, мезенхимальный сепсис, лабораторные маркёры сепсиса.

Введение. В последние годы остаётся дискуссионным и не вполне решённым вопрос о внедрении в клиническую практику России новой классификации септических состояний, принятой на Международной согласительной конференции в г. Чикаго в 1991 г. [2, 3, 6]. Основные сложности в настоящее время связаны с отсутствием достоверной, научно обоснованной патоморфологической картины синдрома системной воспалительной реакции и сепсиса, предложенных зарубежными учёными. Тем не менее, клиника этих состояний известна и требует внимания и изучения со стороны учёных и клиницистов. По данным отечественных и зарубежных авторов, синдром системного воспалительного ответа и сепсис сопровождают гнойно-некротические заболевания мягких тканей у 62,5–77,6% больных [3], а летальность при его тяжёлых формах составляет от 12 до 60% и не имеет тенденции к снижению [2, 4, 5].

Ранее используемый для клинического подтверждения сепсиса факт бактериемии в настоящее время многими учёными подвергается сомнению в результате современных данных о возможности развития бессимптомной, идиопатической или кратковременной бактериемии, не сопровождающейся клиникой сепсиса [3]. В связи с этим наибольшее значение отводится поиску наиболее специфических для генерализованных форм инфекции биохимических маркёров крови, которые позволяли бы устанавливать диагноз сепсиса на ранних стадиях и прогнозировать течение системной воспалительной реакции [2–4].

Цель настоящего исследования — изучение частоты встречаемости синдрома системной вос-

палительной реакции и различных форм сепсиса у больных с гнойно-некротическими инфекциями мягких тканей, определение клинической значимости исследования уровня С-реактивного белка, олигопептидов и лактоферрина периферической крови для диагностики мезенхимального сепсиса.

Материал и методы. Проведено проспективное исследование результатов лечения 2250 больных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, прошедших стационарное лечение в период с 1998 по 2007 г. в условиях гнойного хирургического отделения городской клинической больницы № 1 г. Челябинска. Диагностику септических состояний у данных больных проводили согласно классификации, принятой в г. Чикаго в 1991 г., которая включает следующие формы септических состояний: синдром системной воспалительной реакции, сепсис, тяжёлый сепсис, септический шок, синдром полиорганной недостаточности [2, 3].

В ходе исследований в зависимости от наличия и выраженности симптомов системной воспалительной реакции [гипертермия выше 38 °С или ниже 36 °С, тахикардия более 90 уд/мин, тахипноэ более 20 в 1 мин или pCO_2 менее 32 мм рт. ст. (для больных на аппарате искусственной вентиляции лёгких), лейкоцитоз более $12 \times 10^9/л$ или ниже $4 \times 10^9/л$, или наличие не менее 10% незрелых клеток] все больные были разделены на две группы. В основную группу вошли 1238 (55,1%) человек с двумя симптомами и более системной воспалительной реакции различной степени тяжести. При наличии двух из перечисленных симптомов диагностировали синдром системного воспалительного ответа лёгкой степени (ССВР₂), сочетание трёх симптомов соответствовало системной воспалительной реакции средней степени тяжести (ССВР₃), а регистрация всех четырёх симптомов указывала на тяжёлую степень данного синдрома (ССВР₄). У 13,3% (299 пациентов) синдром системного воспалительного ответа был купирован к $(2,5 \pm 0,05)$ -м суткам, а у остальных 42% (939 пациентов) — длительность сохранения данного синдрома составила $(6,7 \pm 0,08)$ сут. Группу сравнения составили 1012 (44,9%) человек с одним из симптомов системной реакции или при их отсутствии. У больных обеих групп комплексное лечение включало: оперативное вмешательство, местные способы антисептики, антибактериальную терапию,

применение противовоспалительных средств и детоксикационной терапии по показаниям. Всем больным в ходе лечения проводили комплексное клиничко-лабораторное обследование.

Для подтверждения клинического диагноза сепсиса в качестве биохимических маркёров у 705 больных обеих групп исследовали уровень С-реактивного белка (СРБ) методом латекс — агглютинации — в норме (3 ± 3) мг/л и концентрацию олигопептидов (пептидов средней молекулярной массы — ПСМ) крови методом фотометрии при длине волны 254 нм — в норме $(0,24 \pm 0,02)$ усл. ед., а также у 120 пациентов дополнительно определяли концентрацию лактоферрина (ЛТФ) крови методом ИФА — в норме (1000 ± 400) нг/мл. Выбор данных показателей для диагностики сепсиса определялся их биологическими свойствами. В частности, уровень СРБ увеличивается в присутствии патогенной и условно-патогенной флоры в очаге воспаления. Этот белок способен связываться с микроорганизмами и структурными компонентами бактериальных клеток с последующим присоединением антител и активацией комплемента по классическому пути, также его уровень напрямую связан с концентрацией молекул бактериального происхождения в крови [3]. ПСМ позволяют оценивать степень выраженности эндотоксемии, обусловленной тем или иным видом эндотоксикоза. В то же время некоторые регуляторные цитокины и медиаторы воспаления также входят в эту фракцию пептидов, что позволяет использовать уровень данного показателя для косвенной оценки степени цитокинемии, являющейся основным патогенетическим звеном развития системного воспалительного ответа и различных форм сепсиса [2]. ЛТФ продуцируют клетки железистого эпителия и костного мозга, его значение при воспалительных реакциях обусловлено бактерицидным и бактериостатическим действием, за счёт его конкурентного связывания с железом, необходимым для размножения микроорганизмов. Данное вещество способствует удержанию нейтрофилов в очаге воспаления, блокирует перекисное окисление липидов, защищая мембрану фагоцитов, ингибирует реакции C_3 - и C_5 -компонентов комплемента с иммунными комплексами (по классическому пути). Увеличение данного показателя у больных с клиникой полиорганной недостаточности свидетельствует о тканевой ишемии, гипоксии и декомпенсации метаболических нарушений. Ряд исследователей относят данный показатель к маркёрам тяжёлого сепсиса. Лактоферрин крови увеличивается при активации лейкоцитов, и потому его концентрация вполне может отражать выраженность ответной воспалительной реакции организма [5]. Данные

показатели являются экономически выгодными и широко доступными для практической медицины в отличие от ряда рекомендуемых ведущими научными центрами маркёров сепсиса, таких как прокальцитонин, α_2 -макроглобулин и т.д.

На предложенное нами совокупное исследование уровня СРБ, ПСМ и ЛТФ крови для диагностики септических состояний получен патент на изобретение «Способ диагностики мезенхимального сепсиса» № 2319967 от 19.07.2006 г. Статистическую обработку данных производили путём расчёта критериев: Манна—Уитни и Крускала—Уоллиса. Уровень значимости был принят $p < 0,05$ [1].

Результаты и обсуждение. При исследовании данные маркёры определяли исходно в первые 24–48 ч от момента госпитализации у пациентов с развёрнутой клиникой синдрома системного воспалительного ответа различной степени тяжести и при локальных формах гнойно-некротической инфекции мягких тканей. Полученные результаты указывают на наличие зависимости между концентрацией данных маркёров крови и тяжестью системной воспалительной реакции (табл. 1).

Наиболее чувствительными среди этих показателей были СРБ и ПСМ крови (чувствительность 97 и 78% соответственно). В частности, уже при наличии одного из симптомов системной воспалительной реакции уровень СРБ превышал верхнюю границу нормы на 8–40%, а увеличение уровня ПСМ составляло до 10%. При синдроме лёгкой степени тяжести ($CCBP_2$) отмечали увеличение СРБ в 3,3–4,4 раза и ПСМ на 20–30% от верхней границы нормы. При синдроме средней и тяжёлой степени уровень СРБ превышал норму в 6 раз и более, ПСМ увеличивались в 1,4–1,8 раза, а ЛТФ был выше нормы в 1,2–2,2 раза. Выявленная статистически достоверная взаимосвязь между тяжестью системной воспалительной реакции и степенью увеличения концентрации данных показателей позволяет говорить о них как о маркёрах, подтверждающих наличие синдрома системного ответа, который является признаком генерализации инфекции ($r > 0,83$ при $p < 0,05$).

Таблица 1

Концентрация С-реактивного белка (СРБ), олигопептидов (ПСМ) и лактоферрина (ЛТФ) крови в зависимости от тяжести системной воспалительной реакции (СВР) в 1–2-е сутки лечения ($M \pm m$)

Группа больных	Тяжесть синдрома СВР	Число больных	Уровень		Число больных	Уровень ЛТФ (нг/мл)
			СРБ (мг/л)	ПСМ (усл. ед.)		
Сравнения	$СВР_0$	10	$6 \pm 0,18^*$	$0,240 \pm 0,004^*$	10	$412,6 \pm 38,4^*$
	$СВР_1$	292	$8,4 \pm 0,11^*$	$0,270 \pm 0,001^*$	39	$630,4 \pm 19,2^*$
Основная	$CCBP_2$	190	$23 \pm 0,24^*$	$0,319 \pm 0,001^*$	27	$1234,4 \pm 24,6^*$
	$CCBP_3$	119	$40,5 \pm 0,32^*$	$0,403 \pm 0,002^*$	24	$1749,2 \pm 14,3^*$
	$CCBP_4$	94	$42 \pm 0,23^*$	$0,424 \pm 0,004^*$	20	$3100,4 \pm 72,5^*$

Примечание. Выделенные жирным шрифтом значения показателей превышают норму.

* Достоверное отличие показателей между группами в зависимости от тяжести системного воспалительного ответа, $p < 0,05$.

Таблица 2

Динамика СРБ, олигопептидов и лактоферрина крови у больных с локальной и генерализованной формами инфекции

Группа	1–2-е сутки	3–4-е сутки	5–9-е сутки	10–14-е сутки	15–20-е сутки
С-реактивный белок (СРБ) (0–6 мг/л)					
СВР _{0–1}	8,2 ± 0,2*	5,1 ± 0,3*	3,4 ± 0,2	0	–
ССВР _{2–4} менее 72ч	18,3 ± 0,2*	7,3 ± 0,2*	5,1 ± 0,1*	3,1 ± 0,1*	0
ССВР _{2–4} более 72ч	54,3 ± 0,4*	49,9 ± 0,5*	32,2 ± 0,4*	24,6 ± 0,5*	18,3 ± 0,4
Олигопептиды (0,24–0,26 ед.)					
СВР _{0–1}	0,23 ± 0,003*	0,24 ± 0,004	0,22 ± 0,002	–	–
ССВР _{2–4} менее 72ч	0,27 ± 0,005*	0,26 ± 0,003*	0,24 ± 0,002*	0,23 ± 0,001*	0,22 ± 0,001*
ССВР _{2–4} более 72ч	0,39 ± 0,002*	0,37 ± 0,002*	0,34 ± 0,003*	0,30 ± 0,002*	0,28 ± 0,003*
Лактоферрин (ЛТФ) (600–1400 нг/мл)					
СВР _{0–1}	630 ± 19*	547,3 ± 20*	473,1 ± 13*	594,2 ± 14*	–
ССВР _{2–4} менее 72ч	1416,4 ± 67*	1213,2 ± 26*	1086,3 ± 22*	873,5 ± 21*	698,3 ± 17*
ССВР _{2–4} более 72ч	2607,3 ± 37*	2107,8 ± 19*	1523,1 ± 12*	1286,4 ± 11*	1294 ± 8*

Примечание. Жирным шрифтом выделены показатели выше нормы.

* $p < 0,05$.

В процессе лечения производили исследование уровня данных маркёров каждые 48–72 ч. При последующем всестороннем анализе полученных результатов была выявлена особенность ряда клиничко-лабораторных данных. У 54 больных основной группы проявления синдрома системной воспалительной реакции были купированы в течение первых 72 ч от начала лечения, а у остальных 349 пациентов, несмотря на адекватную терапию, синдром сохранялся 4–5 сут и более. Сравнение исходных показателей СРБ, ПСМ и ЛТФ крови, и их концентраций в динамике на фоне лечения выявило достоверную разницу уровня этих маркёров у пациентов с кратковременным (менее 72 ч) и продолжительным (более 72 ч) сохранением синдрома системного ответа. При этом среди пациентов в каждой из выделенных подгрупп (с сохранением синдрома системного ответа менее и более 72 ч) концентрация исследуемых маркёров при поступлении и в динамике не имела достоверных различий.

Согласно полученным данным, при локальных формах инфекции (СВР_{0–1}) ПСМ и ЛТФ крови оставались весь период лечения в норме, а СРБ в течение (1,8 ± 0,03) сут превышал верхнюю границу не более чем в 2 раза (до 12 мг/л). При кратковременном синдроме системного ответа (ССВР_{2–4} менее 72 ч) исходный уровень СРБ был увеличен в 2–4 раза (12–24 мг/л), ПСМ не превышали 0,31 ед., а уровень ЛТФ крови был ниже 1900 нг/мл, и данные показатели возвращались к норме к (1,8 ± 0,18) — (3,8 ± 0,21)-м суткам ($p < 0,01$) (табл. 2).

У больных с сохранением синдрома системного ответа более 72 ч от начала адекватной терапии, который мы расценивали как сепсис, исходный уровень СРБ был выше 30 мг/л, ПСМ — превышали 0,34 ед., а ЛТФ крови был выше 1900 нг/мл. Причём на фоне лечения ЛТФ крови возвращался к норме только на (12,2 ± 0,75)-е сутки, а нормализация уровня СРБ и ПСМ происходила лишь к (21,3 ± 0,19)-м и (25,4 ± 0,18)-м суткам ($p < 0,01$).

Различные исходные концентрации и сроки нормализации данных маркёров отражают особенности системных проявлений инфекции мягких тканей. При кратковременном синдроме системного ответа токсины и медиаторы воспаления, вероятно, поступают в кровоток только из очага воспаления, и их уровень зависит от состояния данного очага, поэтому степень изменения маркёров не так высока, и при адекватной терапии концентрация биологически активных веществ быстро снижается, так же как и уровень исследуемых нами маркёров. Иная ситуация развивается при сепсисе. Исходный значительно более высокий уровень маркёров определяется не только теми токсинами и молекулами бактериального происхождения, которые поступают из очага воспаления, но и теми цитокинами, которые выделяются за пределами очага инфекции при генерализованной активации иммунокомпетентных клеток (макрофаги печени, лёгких и т.д.). Генерализованная вторичная цитокинемия определяет и исходную более высокую концентрацию маркёров, и продолжительное сохранение клиники синдрома системного ответа, и отсутствие чёткой связи между состоянием очага воспаления

и системными проявлениями инфекции. В этом случае выделенный нами 72-часовой промежуток купирования клинических проявлений генерализованной инфекции был определен эмпирически только для исследуемых пациентов с мезенхимальной инфекцией.

Объем и тактика лечения у пациентов выделенных в ходе исследований подгрупп (с синдромом системного ответа и сепсисом) соответствовали объему и характеру воспалительных изменений мягких тканей и в большей степени влияли на динамику концентрации исследуемых маркеров при кратковременном синдроме системного ответа, при котором сохранялась связь между локальными и общими проявлениями инфекции.

При сравнении нозологических форм инфекции у пациентов с кратковременным синдромом системного ответа в 42% случаев отмечали ограниченные гнойно-некротические процессы, а у 57% больных была флегмона мягких тканей ($p < 0,05$). При этом у пациентов с сепсисом ограниченные гнойно-некротические процессы отмечали в 30% случаев, а у 71% больных инфекционный процесс носил флегмонозный характер. В обеих подгруппах преобладали пациенты с флегмонами мягких тканей, но если доля гнойных флегмон в подгруппах была близкой, составляя 53 и 48% соответственно ($p > 0,05$), то гнойно-некротические флегмоны у пациентов с кратковременным сохранением синдрома встречались в 4,6 раза реже, чем у больных с сепсисом, составляя 5 и 23% соответственно ($p < 0,01$). Следовательно, на исходную концентрацию СРБ, ПСМ и ЛТФ крови в большей мере влиял не столько флегмонозный характер воспаления, сколько гнойно-некротический тип поражения тканей, сопровождающийся длительным существованием очага инфекции и выраженным стимулирующим влиянием на иммунную систему при формировании септического характера очага воспаления.

Выводы. 1. Исследование уровня С-реактивного белка, олигопептидов и лактоферрина крови целесообразно использовать для лабораторного подтверждения сепсиса, оценки степени выраженности ответной воспалительной реакции организма, эндотоксемии и для определения прогноза заболевания.

2. Гнойно-некротические заболевания мягких тканей у 45% больных протекали в виде локальной формы инфекции, у 13,3% — они сопровождались кратковременным (менее 72 ч) синдромом системной воспалительной реакции, а у 41,7% — был диагностирован сепсис.

3. Увеличение концентрации С-реактивного белка более 30 мг/л, повышение уровня олиго-

пептидов более 0,34 ед. и лактоферрина свыше 1900 нг/мл в сочетании с сохранением синдрома системного воспалительного ответа более 72 ч от начала адекватной терапии инфекции мягких тканей является диагностическим критерием мезенхимального сепсиса.

3. Благоприятным прогностическим признаком, отражающим высокую степень вероятности купирования имеющегося синдрома системной воспалительной реакции в течение 24–72 ч от начала адекватного комплексного лечения, является увеличение С-реактивного белка в 2–4 раза, олигопептидов — до 0,34 ед. и лактоферрина крови — не выше 1900 нг/мл.

4. Сочетание клиники синдрома системной воспалительной реакции с нормальным уровнем С-реактивного белка и лактоферрина крови исключает диагноз сепсиса и определяет необходимость поиска «не бактериальных» причин возникновения данного синдрома воспалительного ответа.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика.—М.: Практика, 1998.—459 с.
2. Ерюхин И.А. Инфекция в хирургии. Старая проблема накануне нового тысячелетия.—Ч. 1 // Вестн. хир.—1998.—№ 1.—С. 85–91.
3. Исаков Ю.Ф., Белобородова Н.В. Сепсис у детей.—М.: Мокеев, 2001.—368 с.
4. Костюченко А.Л., Бельских А.Н., Тулупов А.Н. Интенсивная терапия послеоперационной раневой инфекции и сепсиса.—СПб.: Фолиант, 2000.—448 с.
5. Немцова, Е.Р., Иванова Л.М., Якубовская Р.И. и др. Иммуноферментный метод определения лактоферрина человека и его использование для диагностики гнойно-септических осложнений // Вопр. мед. химии.—1995.—№ 3.—С. 58–61.
6. Bone R.G. Let's agree on terminology: definition of sepsis // Crit. Care Med.—1991.—Vol. 19, № 7.—Р. 973–976.

Поступила в редакцию 19.07.2008 г.

N.A.Barkhatova

DETERMINATION OF THE CONCENTRATION OF C-REACTIVE PROTEIN, OLIGOPEPTIDES AND LACTOFERRIN OF BLOOD AS A METHOD OF EARLY DIAGNOSIS OF MESENCHYMAL SEPSIS

The investigation of results of treatment included the observation of 2250 patients with pyo-necrotic diseases of soft tissues. For the early diagnosis of sepsis the indices of C-reactive protein, oligopeptides and lactoferrin of blood were used. In the presence of one or more symptoms of the systemic inflammatory reaction the level of the indices was increased from 1.1–3.1 up to 4–7 times depending on the degree of the systemic response severity. When the inflammatory process was local the data of the markers remain normal. These markers allow the confirmation of the clinical diagnosis of sepsis, assessment of the degree of the systemic inflammatory reaction and prognosis of the disease.