

## Пресепсин и метаболиты оксида азота при инфекционных осложнениях у детей с онкопатологией

Е.Г. Головня<sup>1</sup>, А.В. Сотников<sup>1</sup>, В.Н. Байкова<sup>1</sup>, О.П. Петина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Российская Федерация

### Контактная информация.

Головня Евгений Геннадьевич, младший научный сотрудник Экспресс-лаборатории НИИ Клинической онкологии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина, Каширское ш., 23, Российская Федерация, Москва, 115478, e-mail: [golovnya\\_e@mail.ru](mailto:golovnya_e@mail.ru)

Сотников Анатолий Вячеславович, д.м.н., и.о. заведующего отделением анестезиологии-реаниматологии НИИ Детской онкологии и гематологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., 23, Российская Федерация, Москва, 115478, e-mail: [abcv@mail.ru](mailto:abcv@mail.ru)

Ранняя диагностика начала инфекционно-септических осложнений при комплексном лечении детей с онкопатологией является актуальной проблемой современной медицины. Использование современных методик определения значимых биомаркеров сепсиса позволяет проводить дифференцировку патологических состояний в зависимости от степени тяжести (начиная с синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), и заканчивая септическим шоком и полиорганной недостаточностью), что имеет важное прогностическое значение. В данной работе представлены данные о различиях в концентрациях пресепсина (ПСП) и метаболитов оксида азота II (суммарное содержание нитратов и нитритов, (NO<sub>x</sub>)) в двух группах пациентов детского возраста с онкопатологией в зависимости от исхода заболевания ( $p < 0,05$ ). Не было выявлено значимой корреляционной зависимости между этими биомаркерами в обеих группах пациентов. Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение концентрации ПСП и одновременное снижение концентрации NO<sub>x</sub> соотносятся с неблагоприятным исходом течения инфекционных осложнений.

**Ключевые слова:** биомаркеры сепсиса, дети, онкология, пресепсин, оксид азота.

# Use of presepsin and nitric oxide metabolites in pediatric oncology patients with infectious complications

E.G. Golovnya<sup>1</sup>, A.V. Sotnikov<sup>1</sup>, V.N. Baykova<sup>1</sup>, O.P. Petina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation

## Contact information.

E.G. Golovnya, Research Assistant, Express-laboratory of N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, Kashirskoe shosse, 23, Russian Federation, Moscow, 115478, e-mail: golovnya\_e@mail.ru

A.V. Sotnikov, Ph.D, Senior Research Officer, Department of anesthesiology and reanimatology of N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, Kashirskoe shosse, 23, Russian Federation, Moscow, 115478, e-mail: abcv@mail.ru

Early diagnostics of infectious complications is an actual problem of modern medicine. Application of different methods of laboratory biomarkers of sepsis allows to differentiate between different pathological conditions by its severity (from SIRS to septic shock and multi-organ failure), that seems to be crucial in prognosis. Differences in concentration of presepsin (PSP) and nitric oxide metabolites (sum of nitrates and nitrites) in two groups of pediatric patient with oncological diseases are presented in current research ( $p < 0,05$ ). There was no statistically significant correlation between these biomarkers in both groups of patients. Our data showed evidence that growth of concentration of PSP and simultaneous drawdown of concentration of  $\text{NO}_x$  could be a factor of poor prognosis in patients with infectious complications.

**Key words:** biomarkers of sepsis, pediatric oncology, presepsin, nitric oxide.

Сепсис – это системный воспалительный ответ, вызванный инфекцией, который может привести к полиорганной недостаточности у ребенка, а так же повышает уровень смертности. Многие исследования за последнее десятилетие были нацелены на предотвращение и лечение сепсиса. Однако сепсис остается одной из основных причин смерти в ОРИТ [1]. Таким образом, необходимы дополнительные исследования, чтобы улучшить прогноз (или исходы) тяжелого сепсиса и септического шока посредством раннего начала лечения. Следовательно, одним из важнейших факторов для решения этой задачи становится быстрая и точная постановка диагноза, и оценка тяжести состояния у таких пациентов. Недавние успехи в молекулярных и биологических технологиях значительно увеличили роль биомаркеров в ранней диагностике, стадировании заболевания, прогнозировании и оценке ответа на лечение сепсиса [2]. В настоящее время

большое значение придается поиску информативных биохимических маркеров развития системной воспалительной реакции, поскольку нередко она может осложниться сепсисом [3]. В детской практике стали применяться такие маркеры сепсиса, как фактор некроза опухолей (ФНО), интерлейкины -6, -10 (ИЛ-6, ИЛ-10), прокальцитонин (ПКТ) и С-реактивный белок (СРБ). Однако эти биомаркеры обладают специфическими ограничениями в применении или низкой точностью. Например, СРБ очень чувствителен, но неспецифичен при диагностике сепсиса и не подходит для постановки диагноза. ПКТ обладает большей специфичностью, чем СРБ, но является маркером только бактериальных инфекций [4, 5]. Некоторые исследования показали, что ПКТ не может использоваться для дифференциальной диагностики сепсиса от ССВО, так как, применяясь индивидуально, он обладает неадекватной диагностической эффективностью у пациентов с тяжелым сепсисом. Таким образом, необходимо комбинирование биомаркеров. Большинство биомаркеров требуют минимум 24 часа, чтобы проявить свою специфичность, таким образом, необходимо активизировать поиски новых биомаркеров для ранней диагностики сепсиса.

В связи с этим, особую актуальность приобретает разработка и применение диагностически информативных критериев, позволяющих объективно оценить состояние больного и степень метаболических нарушений в процессе специального лечения.

Новый маркер сепсиса – растворимый субтип молекулы CD-14 (sCD14-ST), названный «пресепсин» (ПСП) был предложен в 2005 году группой исследователей из Медицинского университета Иватэ (Япония) [6]. Было обнаружено, что его концентрация в крови пациентов с сепсисом была резко повышена [7], что указывало на перспективность ПСП как маркера сепсиса.

В девяностые годы прошлого века была показана роль оксида азота как регулятора целого ряда патологических и физиологических процессов в организме, включая, в том числе и воспалительную реакцию. Открытие оксида азота позволило пересмотреть патофизиологию многих процессов, в том числе и сепсиса. В настоящее время показана важность и перспективность биохимических маркеров – ПСП и оксида азота, в диагностике системной воспалительной реакции и сепсиса [8, 9, 10].

Учитывая вышесказанное, мы провели предварительное изучение маркеров системного воспаления – пресепсина и конечных метаболитов оксида азота (суммарное содержание нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ )) с целью определить их возможность их применения у детей и подростков с онкопатологией.

### **Материалы и методы исследования**

В исследование вошло 43 пациента, находившихся на лечении в НИИ Детской онкологии и гематологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, в период с

ноября 2014 по май 2016 года. Показаниями к включению в исследование были: возраст менее 18 лет, наличие онкологического заболевания, признаки системного воспалительного ответа (ССВО) или сепсиса. Сепсис определяли как состояние, характеризующееся ССВО, ассоциированного с инфекцией. ССВО предполагает наличие 2-х и более признаков из следующих критериев: температура менее 36,8°С или более 38,8°С, частота сердечных сокращений (ЧСС) более 90 уд/мин, частота дыхания (ЧД) более 20 вдохов/мин или  $P_a(\text{CO}_2)$  менее 4,3 кПа (32 мм рт. ст.), количество лейкоцитов более  $12 \times 10^9/\text{л}$  или менее  $4 \times 10^9/\text{л}$  или присутствие незрелых палочкоядерных форм более 10% [11]. Критериями исключения данного исследования были следующие параметры: возраст более 18 лет, отсутствие онкологического заболевания, отсутствие признаков ССВО, сепсиса.

В данную группу были включены пациенты с различными нозологическими формами заболеваний: саркома Юинга, медуллобластома, острый миелоидный лейкоз, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, острый лимфобластный лейкоз, рабдоидная опухоль (рецидив), примитивная нейроэктодермальная опухоль височной кости слева, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, альвеолярная рабдомиосаркома. Возраст пациентов колебался от 2-х до 18 лет.

В ходе исследования пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от исхода. В группу выживших вошло 32 человека, группа с летальным исходом составила 11 человек.

Кровь пациентов собирали в вакуумные пробирки, после чего сразу же проводилось определение интересующих показателей. ПСП определяли на иммунохемилюминисцентном анализаторе Pathfast (Mitsubishi Chemical Medicine Corporation), используя стандартный набор реагентов. Нормальным содержанием пресепсина считали его концентрацию у группы здоровых добровольцев, определенную в исследовании Shozushima T. et al., которая составила ПСП= $294,2 \pm 121,4$  пг/мл [7].

Концентрацию конечных метаболитов оксида азота (суммарное содержание нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ )) определяли по методике Голикова П.П. и Николаевой Н.Ю. В основе определения лежит реакция восстановления нитратов в нитриты гранулами кадмия в присутствии ионов цинка, и измерение суммарного содержания метаболитов оксида азота при длине волны 550 нм по азокрасителю, который образуется в реакции с реактивом Грисса [12]. За нормальное содержание оксида азота, т.е. его содержание в группе практически здоровых детей, использовали данные, полученные Марковым Х.М. [13], с помощью той же методики Голикова П.П. и Николаевой Н.Ю. –  $\text{NO}_x = 24,09 \pm 3,45$  мкмоль/л.

## Статистический анализ

Для статистической обработки результатов исследования использовались процедуры математической статистики, реализованные в программе SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). Исследуемые показатели обладали распределением, отличавшимся от нормального, и были представлены в виде медианы, минимального и максимального значений. Проверку распределения на нормальность осуществляли графическим методом в программе SPSS 21.0 (график нормальной вероятности типа «квантиль-квантиль»). Непараметрические данные были проанализированы с использованием теста Манна-Уитни для сравнения групп. Так же был проведен корреляционный анализ Спирмена между исследуемыми показателями. Значения  $p < 0,05$  считались статистически значимыми.

## Результаты

При обработке полученных данных были рассчитаны медианы, минимальные и максимальные значения концентрации каждого из биомаркеров: ПСП и  $\text{NO}_x$ , результаты представлены в таблице.

У пациентов 1-ой группы, оставшихся в живых, медиана концентрации ПСП составила 581 пг/мл (минимальное значение составило 61,9, максимальное – 2330 пг/мл), что в среднем, в два раза превышает его нормальную концентрацию. Медиана концентрации ПСП у пациентов 2-ой группы, умерших, составила 2433 пг/мл (минимальное значение составило 146, максимальное – 20000 пг/мл), здесь наблюдалось значительное превышение нормальных показателей. Как следует из представленных данных, различия между 1 и 2-ой группами статистически достоверны:  $p = 0,0000$  (тест Манна-Уитни для независимых выборок).

При наблюдении пациентов ( $n=43$ ), поступивших в ОРИТ, нами были отмечены определенные различия в показателях ПСП, особенно в 1-ой группе. Было установлено, что системной воспалительной реакции соответствовала концентрация ПСП более 360 пг/мл; локальной инфекции – более 790 пг/мл; сепсису – более 900 пг/мл; тяжелому сепсису – более 2000 пг/мл.

Пациенты с инфекционными осложнениями имели уровень ПСП достоверно повышенный по сравнению с пациентами, не имевшими инфекций ( $p < 0,05$ , тест Манна-Уитни для независимых выборок).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ПСП может использоваться не только как маркер сепсиса, но и прогностически значимый маркер: если его концентрация возрастает, не реагируя на проводимую терапию, то, не исключено, что больного ждет неблагоприятный исход. На это также необходимо обращать внимание, как на маркер неэффективности проводимой терапии. ПСП надежно отражает реальную

динамику тяжести процесса, быстро и адекватно изменяется в зависимости от эффективности терапии, прогнозирует рецидивы сепсиса после ремиссии [14].

Не менее значимы полученные данные по метаболитам оксида азота ( $\text{NO}_x$ ). В 1-ой группе выживших детей медиана содержания  $\text{NO}_x$  составила 28 мкмоль/л (минимальное значение составило 2, максимальное – 120 мкмоль/л), что приблизительно, в среднем, в 1,5-2 раза выше нормальных значений. Во 2-й группе, умерших пациентов содержание  $\text{NO}_x$  составило 13 мкмоль/л, (минимальное значение составило 3, максимальное – 63 мкмоль/л), что значительно ниже нормальных значений. Различие в уровнях  $\text{NO}_x$  между группами 1 и 2:  $p=0,0000$  ( $p<0,05$ , тест Манна-Уитни для независимых выборок). Не установлено наличия статистически достоверных корреляционных связей уровня ПСП и содержания  $\text{NO}_x$  в крови обследованных больных (рис. 1 и 2). Была выявлена отрицательная корреляционная зависимость во 2-й группе, умерших между концентрациями  $\text{NO}_x$  и ПСП, но она оказалась статистически незначимой (коэффициент ранговой корреляции Спирмена  $r=-0,27$ ,  $p=0,07$ ). В 1-й группе, выживших, корреляционной зависимости между концентрациями  $\text{NO}_x$  и ПСП не было выявлено (коэффициент ранговой корреляции Спирмена  $r= -0,097$ ,  $p=0,47$ ).

Таким образом, ПСП – это чувствительный и специфичный маркер сепсиса, отражающий его динамику, тяжесть состояния пациентов и прогнозирующий исходы. Хотя и не было найдено достоверной корреляционной зависимости ПСП и  $\text{NO}_x$ , концентрация метаболитов оксида азота достоверно отличалась в группе умерших и выживших пациентов (таблица 1).

Таблица 1 Концентрация ПСП и оксида азота у детей и подростков с онкопатологией

Показатель	Норма	Группа 1 n=32 (Медиана, мин.; макс.)	Группа 2 n=11 (Медиана, мин.; макс.)	Достоверность между гр. 1 и 2 (Тест Манна-Уитни для независимых выборок)
ПСП (пг/мл)	294,2±121,4	581 (61,9; 2847)	2433 (146; 20000)	$p < 0,05$
$\text{NO}_x$ (мкмоль/л)	24,09± 3,45	28 (2; 120)	13 (3; 63)	$p < 0,05$
Коэффициент ранговой корреляции Спирмена ПСП/ $\text{NO}_x$		-0,097 (корреляция отсутствует)	-0,27 (корреляция незначима – $p=0,07$ )	

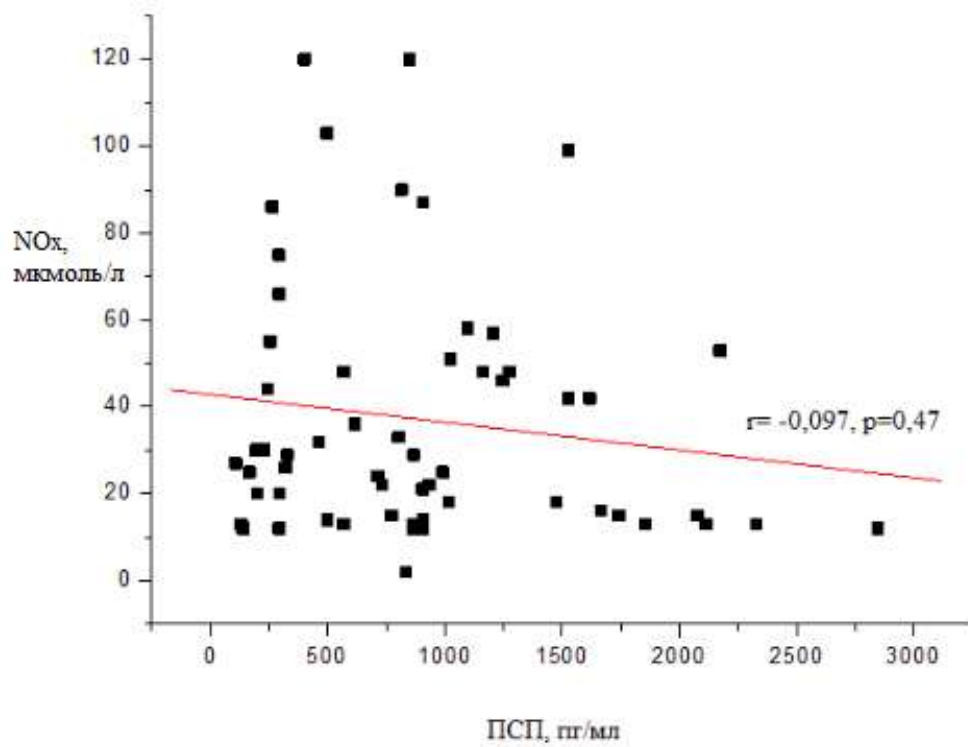


Рис 1. Корреляционная зависимость между ПСП и NO<sub>x</sub>.

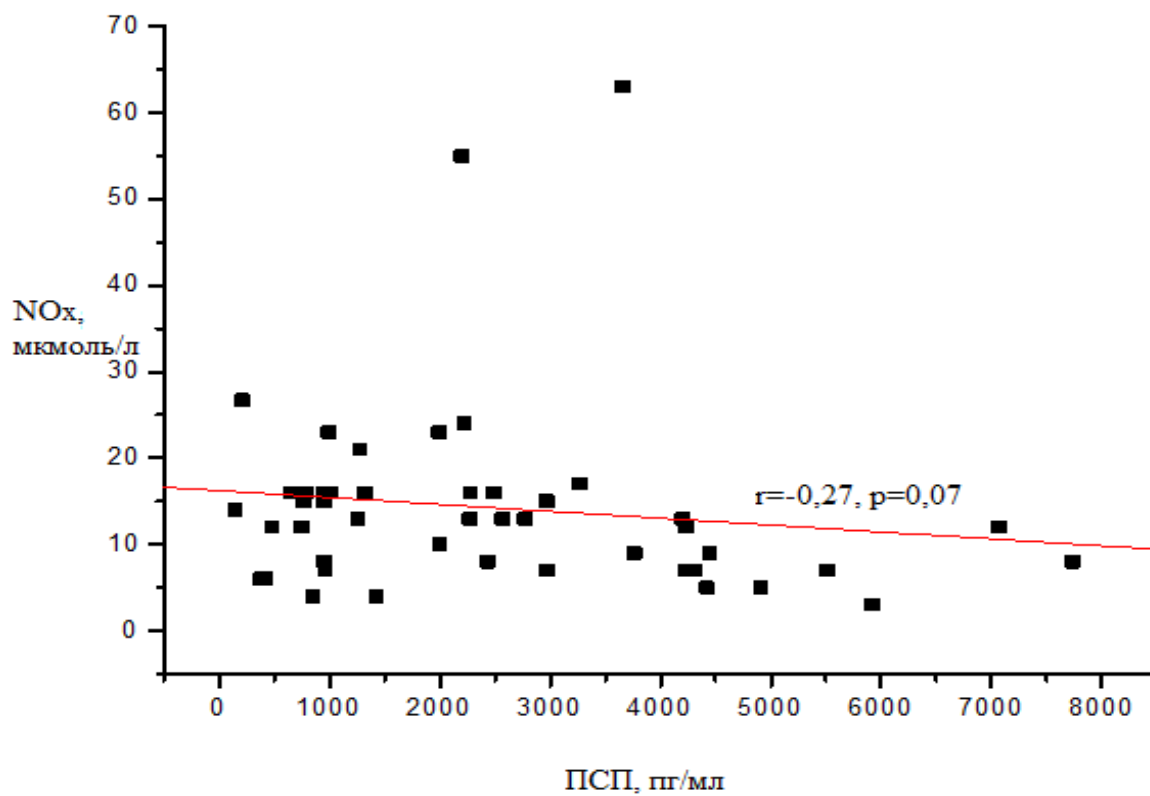


Рис 2. Корреляционная зависимость между ПСП и NO<sub>x</sub>.

## Обсуждение

В последнее время особую актуальность приобретают исследования по лабораторной, биохимической диагностике сепсиса, поиску новых значимых, прогностических маркеров. Особую важность и значимость эти исследования приобретают в детской онкологии, когда пациенты получают сложное комбинированное лечение, включающее расширенные операции, высокодозную и сопроводительную терапию. К сожалению, перечень применяющихся в настоящее время биохимических маркеров сепсиса невелик и они не всегда дают объективную картину состояния больного, не являются специфическими, прогностическими и порой не могут использоваться для суждения об эффективности лечения. Поэтому в данной работе рассматривается роль  $\text{NO}_x$ , открытого в конце XX века и ПСП, который начали применять в первое десятилетие XXI века. Оба эти маркера по путям образования (ПСП, оксид азота) и их циркулирующим концентрациям отражают: факт активации фагоцитоза, его интенсивность, выраженность ССВО. В результате исследования нами получены обратные слабые корреляции между ними только в группе умерших пациентов. Полученные данные свидетельствуют о том, что ПСП и  $\text{NO}_x$  могут использоваться не только как маркеры сепсиса, но и прогностически значимые маркеры: если концентрация ПСП возрастает, не реагируя на проводимую терапию, а  $\text{NO}_x$  значительно снижается то, не исключено, что больного ждет неблагоприятный исход. ПСП надежно отражает реальную динамику тяжести процесса, быстро и адекватно изменяется в зависимости от эффективности терапии, прогнозирует рецидивы сепсиса после ремиссии.  $\text{NO}_x$  более тонкий маркер сепсиса, для него необходимо учитывать проводимую терапию – если пациент получает глюкокортикоиды, или другие лекарственные препараты, которые влияют на активность индуцибельной NO-синтазы, т.е. будут ее ингибировать [15], то концентрация  $\text{NO}_x$  будет значительно снижаться, что также будет плохим фактором прогноза. Именно поэтому нами была получена отрицательная значимая корреляция между ПСП и  $\text{NO}_x$  в группе 2, умерших пациентов (коэффициент ранговой корреляции Спирмена  $r=-0,27$ , но корреляция статистически незначима –  $p=0,07$ ).

Таким образом, мониторинг уровня ПСП и  $\text{NO}_x$  в сыворотке может облегчить наше понимание прогрессирования критических состояний и может быть использован для оценки их тяжести.

## Выводы:

1. Найдены достоверные отличия в концентрациях пресепсина и метаболитов оксида азота между группой выживших и группой пациентов с летальным исходом.
2. Не было выявлено корреляционной зависимости между пресепсином и суммарным содержанием метаболитов оксида азота в исследуемых группах пациентов.



### **Конфликт интересов.**

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

### **ORCID авторов.**

Головня Е.Г. – 0000-0003-3446-9176

Сотников А.В. – 0000-0001-7240-8273

Лебедева А.В. – 0000-0001-5881-1795

Байкова В.Н. – 0000-0001-5338-9265

### **Вклад в написание статьи:**

Головня Е.Г. – определение исследуемых показателей (NOx, ПСП), статистическая обработка данных, написание обзора литературы, разработка дизайна исследования.

Сотников А.В. – набор групп пациентов, лечение пациентов.

Лебедева А.В. – определение исследуемых показателей (NOx, ПСП).

Байкова В.Н. – написание обзора литературы.

### **Список литературы:**

1. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):4-11. doi: 10.4161/viru.27372. Epub 2013 Dec 11.
2. Ravi S Samraj, Basilia Zingarelli, and Hector R Wong. Role of biomarkers in sepsis care. *Shock*. 2013 Nov; 40(5): 358-365. doi: 10.1097/SHK.0b013e3182a66bd6.
3. Колесниченко А.П., Мосякин Н.А., Распопин Ю.С., Кондрашов М.А., «Информативность различных биохимических маркеров сепсиса: литературные и собственные данные» // Сибирское медицинское обозрение, 2015, № 4, с. 11-17.
4. Vincent JL, Donadello K, Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein. *Crit Care Clin* 2011;27:241-51. doi: 10.1016/j.ccc.2010.12.010.
5. Reinhart K, Meisner M. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin. *Crit Care Clin* 2011; 27:253-63. doi: 10.1016/j.ccc.2011.01.002.
6. Yaegashi Y, Shirakawa K, Sato N, Suzuki Y, Kojika M, Imai S, et al. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. *J Infect Chemother* 2005; 11: 234-238. doi: 10.1007/s10156-005-0400-4

7. Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y, Endo S. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Chemother* 2011; 17: 764-769. doi: 10.1007/s10156-011-0254-x. Epub 2011 May 12.
8. Corinna Lupp, Silke Baasner, Can Ince, Frank Nocken, John F Stover and Martin Westphal Differentiated control of deranged nitric oxide metabolism: a therapeutic option in sepsis? *Crit Care*. 2013; 17(3): 311. doi: 10.1186/cc12538.
9. Endo S, Suzuki Y, Takahashi G et al. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: A multicenter prospective study. *J Infect Chemother*. 2013;18(6):891-7. doi: 10.1007/s10156-012-0435-2. Epub 2012 Jun 13.
10. Liu B, Chen YX, Yin Q et al, Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care*. 2013;17(5):R244. doi: 10.1186/cc13070.
11. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256. doi: 10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B
12. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. «Метод определения нитрита/нитрата (NO<sub>x</sub>) в сыворотке крови». *Биомедицинская химия*, 2004, т. 50, №1, с. 79-85.
13. Марков Х.М. «Роль оксида азота в патогенезе болезней детского возраста», *Российский вестник перинатологии и педиатрии*, N4-2000, с.43-47, Институт педиатрии - Научный центр здоровья детей РАМН, Москва.
14. Sargentini V, Ceccarelli G, D'Alessandro M et al. Presepsin as a potential marker for bacterial infection relapse in critical care patients. A preliminary study. *Clin Chem Lab Med*. 2014 May 15. doi: 10.1515/cclm-2014-0119.
15. Shears LL, Kawaharada N, Tzeng E, et al. Inducible nitric oxide synthase suppresses the development of allograft arteriosclerosis. *JClinInvest*. 1997 Oct 15; 100(8): 2035–2042. doi: 10.1172/JCI119736

**Вестник интенсивной терапии, 2016.-N 3.-С.43-46**