



www.vto-journal.ru

ТРАВМАТОЛОГИЯ И ОРТОПЕДИЯ

УДК 616.94-07+616-001.36

Н.А. Гординская, М.Ю. Лебедев, М.В. Преснякова,
ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии»

ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРЕСЕПСИНА В ДИАГНОСТИКЕ СЕПСИСА У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМОЙ

Гординская Наталья Александровна –
e-mail: nniifo@rambler.ru

Цель настоящей работы: изучение прогностической значимости различных лабораторных данных в диагностике септических осложнений при ожоговой болезни. Показано, что определение sCD14-ST (пресеписина) в крови позволяет в самые ранние сроки развития системной воспалительной реакции диагностировать активацию CD14-клеток, опережая другие показатели. Конкретные цифровые значения уровня пресеписина дают возможность дифференцировать генерализацию инфекции на фоне системного воспалительного ответа при ожоговой болезни.

Ключевые слова: пресеписин; прогностическая значимость лабораторных данных; ожоговая болезнь; септические осложнения.

The goal of this research is to study a prognostic significance of various laboratory data in diagnostics of septic complications in patients with a burn disease. It is demonstrated that the detection of sCD14-ST (presepsin) in blood enables to diagnose activation of CD14-cells in the earliest terms of a systemic inflammatory reaction development, outpacing other indicators. Specific numerical values of presepsin level enable to differentiate generalization of an infection during a systemic inflammatory response in a burn disease.

Key words: presepsin; prognostic significance of laboratory data; burn disease; septic complications.

ВВЕДЕНИЕ

Сепсис является наиболее частой причиной летальных исходов в отделениях реанимации и интенсивной терапии и самой распространенной причиной шока [1]. По данным американских и европейских обзоров частота развития сепсиса колеблется от 2% у всех госпитализированных больных до 11% у больных, находившихся в палатах интенсивной терапии. Современный взгляд на патогенез сепсиса привел к появлению новой терминологии и диагностических критериев [2]. Вместе с тем проблема ранней диагностики сепсиса остается нерешенной, так как при сепсисе отсутствуют специфические симптомы и признаки. Это касается прежде всего пациентов, у которых системная воспалительная реакция развивается в силу основного заболевания, как при ожоговой болезни. Диагностика сепсиса у таких больных является особенно сложной.

ЦЕЛЮ НАСТОЯЩЕЙ РАБОТЫ было изучение прогностической значимости различных лабораторных данных в диагностике септических осложнений при ожоговой болезни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 57 пациентов с тяжелой термической травмой и с подозрением на септический процесс. Кровь на гемокультуру исследовали



классическим бактериологическим методом, используя двухфазную питательную среду (BioMerieux). Молекулярную детекцию ДНК стафилококка и синегнойной палочки проводили методом полимеразно-цепной реакции с наборами «АмплиСенс» MRSA скрин-титр FL и «АмплиСенс» *Pseudomonas aeruginosa* скрин-титр FL (Интерлабсервис). Содержание С-реактивного белка в сыворотке крови определяли на анализаторе NicoCard REDER-II (Норвегия). Для полуколичественного определения уровня прокальцитонина использовали наборы BRAHMS PCT-Q (Австрия), время анализа – 30 минут. Содержание в плазме крови фактора некроза опухоли- α определяли твердофазным иммуноферментным методом с помощью тест-наборов ProCon («Цитокин», Санкт-Петербург). Содержание sCD14-ST (пресепсина) определяли с помощью иммунохемилюминесцентного экспресс-анализатора PATHFAST (Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Japan) и набора PATHFAST-PRESEPSIN, время анализа – 17 минут.

Для экспериментальной модели стафилококкового сепсиса использовали 15 лабораторных крыс породы «Вистар», массой 250 г. Для индукции генерализованной инфекции внутрибрюшинно вводили 5×10^8 КОЕ стафилококка № 5 коллекции ГИСК им. Л.А.Тарасевича в объеме 0,5 мл в течение трех дней. У животных ежедневно забирали кровь из подъязычной вены с целью определения содержания пресепсина. Для подтверждения инфекции кровяного русла у крыс забирали внутрисердечную кровь и методом полимеразно-цепной реакции определяли наличие ДНК стафилококка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериологическое исследование крови при положительном результате анализа дает возможность выбора адекватных режимов антибактериальной терапии и является классическим. Однако этот метод не лишен недостатков. По нашим данным у пациентов с термической травмой при подозрении на сепсис рост микроорганизмов наблюдался во второй-третьей пробе на вторые-третьи сутки от начала исследования, то есть положительная гемокультура регистрировалась не ранее четвертых суток от момента забора крови. Кроме того, на фоне системной антибактериальной терапии

ожоговой болезни рост микробов на питательных средах нередко отсутствует, что, однако, не дает права исключить инфекцию кровяного русла.

Молекулярные методы детекции ДНК микроорганизмов позволяют получить результат в день исследования, но в настоящее время нет возможности обнаружения всего спектра возбудителей госпитальной инфекции. В нашем распоряжении были наборы для определения ДНК стафилококка и синегнойной палочки, при этом выявление ДНК ацинетобактерий и энтеробактерий оставалось невозможным.

Молекулярно-генетические методы нами использовались в экспериментальной части работы при моделировании генерализованной стафилококковой инфекции у крыс. Подтверждение инфекции кровяного русла проводили ПЦР-исследованием внутрисердечной крови, забранной асептически при выведении животных из опыта. У всех опытных животных в крови обнаружена ДНК стафилококка, у контрольных – не обнаружена.

Многие исследователи рекомендуют для диагностики сепсиса использовать определение в крови количества С-реактивного белка (СРБ). СРБ – острофазный белок, самый быстрый и чувствительный индикатор повреждения тканей при воспалении, некрозе, травме. В сыворотке здоровых людей С-реактивный белок практически не определяется.

При термической травме уровень СРБ повышается до нескольких сотен мг/мл [3]. В дальнейшем регистрируется снижение количества СРБ с возможными подъемами в разные периоды ожоговой болезни. По литературным данным у пациентов с термической травмой и подозрением на генерализацию инфекционного процесса в остром периоде ожоговой болезни концентрация СРБ составляет от 102 до 261 мг/мл, в среднем 153 ± 56 мг/мл. Нами получены идентичные результаты, уровень СРБ составил 150 ± 67 мг/мл, однако цифровые значения количества СРБ для прогноза развития сепсиса на фоне термической травмы определить не удалось.

В последнее десятилетие, с учетом новых данных о патогенезе многих заболеваний и состояний, сопровождающихся системной воспалительной реакцией, широко обсуждается



определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов. Цитокины играют ведущую роль в развитии системного воспаления любой этиологии, выступая индукторами и регуляторами иммунного ответа. Они обладают широким спектром биологического действия, проявляющегося в многообразных изменениях метаболизма, гемопоэза, свойствах сосудистой стенки и функции регуляторных систем. Вне воспалительной реакции и иммунного реагирования цитокины в крови содержатся в очень малом количестве, усиление их синтеза начинается в ответ на проникновение микроорганизмов или повреждение тканей.

Как показали результаты наших исследований, наиболее важным для пациентов с тяжелой термической травмой является определение фактора некроза опухолей- α (ФНО- α), так как наблюдается многократное увеличение содержания цитокина в плазме крови соответственно тяжести травмы и развитию осложнений. Через сутки после травмы уровень ФНО- α в периферической крови достоверно различался в зависимости от площади ожога и при развитии инфекции: в I группе (ожог до 45% п.т.) уровень составил $354,7 \pm 60,6$ пкг/мл, во II группе (ожог свыше 45% п.т.) – $752,6 \pm 40,7$, в III группе (ожог+сепсис) – $938,6 \pm 57,1$ пкг/мл.

На третьи сутки после травмы у пациентов без инфекции регистрировалось снижение концентрации цитокина, а при развитии сепсиса уровень ФНО- α продолжал нарастать и составил $12936,4 \pm 2140,1$ пкг/мл. Таким образом, уровень ФНО- α в плазме крови отражает тяжесть термического поражения и позволяет диагностировать развитие сепсиса на фоне термической травмы.

Вслед за провоспалительными цитокинами при системной воспалительной реакции и сепсисе в кровотоке появляется прокальцитонин. Прокальцитонин (PCT) представляет собой полипептид с м.м. 14,5 кДа, который является неактивным предшественником кальцитонина. В норме PCT образуется из препрокальцитонина в C-клетках щитовидной железы под действием кальций-зависимых факторов. У здоровых людей весь образующийся PCT преобразуется в кальцитонин и практически отсутствует в кровотоке. При генерализованных бактериальных инфекциях, тяжелых травмах,

ожогах, кардиогенном шоке, продолжительных нарушениях микроциркуляции, то есть при системной воспалительной реакции организма происходит повышение PCT в крови. При этом имеет место экстракритериоидный синтез PCT в лейкоцитах, нейроэндокринных клетках легких, кишечника и печени [4]. Основными индукторами синтеза прокальцитонина являются бактериальные эндотоксины и провоспалительные цитокины.

Полученные нами результаты полуколичественного определения прокальцитонина у пациентов с термической травмой и подозрением на генерализацию инфекции показали, что в 40% случаев развития сепсиса содержание PCT в крови оценено как ложноотрицательный результат. Значения PCT при этом не превышали 0,5 нг/мл.

В настоящее время появилась возможность определения уровня гуморального белка пресепсиса, выделяющегося при активации фагоцитирующих клеток. Как известно, в результате связывания липополисахаридсвязывающего белка (ЛСБ) с компонентами бактериальной клетки (липополисахаридом грамотрицательных или пептидогликаном/липотейхоевыми кислотами грамположительных микроорганизмов) начинается быстрая активация мембранного белка макрофагов mCD14, передающего сигнал толл-подобным рецепторам, которые, в свою очередь, являясь трансмембранными рецепторами, передают сигнал о бактериальной инфекции внутрь макрофагов. После выполнения сигнальной функции рецептор mCD14, утрачивая мембранный «якорь» (гликозилфосфатидилинозитол), отсоединяется от мембраны клетки и выходит в циркуляцию как sCD14.

В 2005 г. в крови септических пациентов была обнаружена ранее неизвестная форма sCD14. Было выявлено, что под действием циркулирующей протеазы (катепсина D) от sCD14 отщепляется пептидный фрагмент, в результате чего образуется укороченная форма рецептора, первоначально названная субтипом sCD14-ST, а затем переименованная в пресепсин [5].

Пресепсин (ПСП) – это белок с молекулярной массой 13 кДа, содержащий N-терминальный фрагмент CD14 и не содержащий C-терминальный участок. Модельные эксперименты на животных показали, что воспаление,



индуцированное с помощью препаратов ЛПС, не сопровождалось повышением уровня ПСП в крови, а сепсис, моделированный введением жизнеспособных бактерий, вызывал значительный рост концентрации пресепсина. Повышение уровня пресепсина при этом зарегистрировано уже через 1,5 часа, интерлейкина-6 – через 3 часа, а повышение содержания прокальцитонина – через 6 часов [6].

Нами проведено исследование содержания sCD14-ST (пресепсина) с помощью иммунохемилюминесцентного экспресс-анализатора PATHFAST (Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Japan) у 15 экспериментальных животных с моделью генерализованной стафилококковой инфекции и 26 пациентов с тяжелой термической травмой и подозрением на генерализацию инфекции.

Содержание пресепсина у крыс контрольной группы во все сроки наблюдений оставалось нулевым. Уровень пресепсина в опытной группе животных представлен на рисунке.



У 17 больных из числа обследованных содержание пресепсина было выше 500 пкг/мл (от 522 до 2285 пкг/мл), что по инструкции к тесту является значимым для диагностики сепсиса. При этом уровень прокальцитонина был выше 10 нг/мл только у 5 человек, положительная гемокультура зарегистрирована у 11 (таблица).

Таким образом, определение sCD14-ST (пресепсина) в крови пациентов с тяжелой термической травмой и подозрением на септический процесс в 100% случаев позволило подтвердить клинический диагноз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

«Золотым стандартом» диагностики сепсиса является микробиологическое исследование крови, но бактериологический посев крови

ТАБЛИЦА.
Уровень ПСП и ПКТ

Пациент	ПСП	ПКТ
1	964	>2
2	891	>10
3	743	>2
4	522	>0,5
5	789	<0,5
6	1110	>0,5
7	1887	>10
8	1094	>0,5
9	609	>2
10	1300	>0,5
11	2285	>10
12	909	>10
13	813	>0,5
14	757	>10
15	998	<0,5
16	609	>2
17	1000	<0,5

требует значительных затрат времени, а отрицательные результаты при этом не исключают сепсис.

Динамическое наблюдение за содержанием СРБ у тяжелообожженных дает возможность оценивать тяжесть состояния пациентов, однако количественные критерии, позволяющие улавливать изменения в условиях системной воспалительной реакции основного заболевания, отсутствуют.

Недостатком при изучении уровня цитокинов является невозможность быстрого определения показателя у одного больного, т. к. использование наборов для иммуноферментного метода требует накопления проб крови для целого планшета.

Литературные данные сравнительных исследований показывают, что полуколичественный экспресс-тест РСТ, используемый чаще всего в клиниках, не всегда показывает результаты, идентичные полученным, с помощью высокочувствительных, но, к сожалению, малодоступных количественных методов.

Определение sCD14-ST (пресепсина) в крови позволяет в самые ранние сроки развития системной воспалительной реакции диагностировать активацию CD14-клеток, опережая другие показатели. Конкретные цифровые значения уровня пресепсина дают возможность дифференцировать генерализацию инфекции на фоне системного воспалительного ответа при ожоговой болезни.



ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э. Сепсис у обожженных: вопросы диагностики, профилактики и лечения. Инфекции и антимикробная терапия. 2001. № 3 (3). С. 74-76.
Alekseev A.A., Krutikov M.G., Bobrovnikov A.E. Sepsis u obozhzhennykh: voprosy diagnostiki, profilaktiki i lecheniya. Infekcii i antimikrobnaya terapiya. 2001. № 3 (3). S. 74-76.
2. Руднов В.А. Сепсис: современный взгляд на проблему. Клиническая антимикробная химиотерапия. 2000. № 2 (1). С. 4-11.
Rudnov V.A. Sepsis: sovremeniyy vzglyad na problem. Klinicheskaya antimikrobnaya khimioterapiya. 2000. № 2 (1). S. 4-11.
3. Jeschke M.G., Finnerty C.C., Kulp G.A et.al. Can we use C-reactive protein levels to predict severe infection or sepsis in severely burned patients? Int J. Burn Trauma. 2013. № 3 (3). P. 137-143.
4. Sexton P.M., Christopoulos G., Christopoulos A. et al. Procalcitonin has bioactivity at calcitonin receptor family complexes: potential mediator implications in sepsis. Crit Care Med. 2008. № 36 (5). P. 1637-1640.
5. Shozushima T., Tacanashi G., Matsumoto N. et.al. 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 (6). P. 764-769.
6. Вельков В.В. Пресепсин – новый высокоэффективный биомаркер сепсиса. Клинико-лабораторный консилиум. 2012. № 2. С. 56-62.
Vel'kov V.V. Presepsin – noviy vysokoэффективniy biomarker sepsisa. Kliniko-laboratorniy konsilium. 2012. № 2. S. 56-62.