© В.В. Богачёва, Д.Х. Гардовска, 2014

Маркеры сепсиса. XXI век

В.В. БОГАЧЁВА, Д.Х. ГАРДОВСКА

Кафедра педиатрии Рижского университета им. Страдыня

Sepsis markers. XXI Century

V.V. BOGACHEVA, D.KH. GARDOVSKA

Department of Paediatrics, Rīga Stradiņš University

Аннотация

Сепсис все еще остается одной из ведущих причин смертности во всех возрастных группах популяции во всем мире. Диагностика, мониторинг процесса, своевременное адекватное лечение — все это представляет достаточно сложную проблему в силу гетерогенности самого заболевания. Диагностические биомолекулярные маркеры могли бы значительно упростить, ускорить и объективизировать весь лечебный процесс — от диагностики и контроля процесса до верификации и своевременной коррекции лечения. В настоящее время, благодаря развитию технологий лабораторных методов исследования в качестве диагностических маркеров изучается более 100 биологических единиц в общей концепции системного воспаления и инфекции. Природа сепсиса все еще остается загадкой.

Ключевые слова: сепсис, маркеры, системное воспаление.

Sepsis remains a leading cause of death in all age groups worldwide. Diagnosis, process monitoring, and timely appropriate treatment are all that are a fairly complex problem due to the heterogeneity of the disease itself. Diagnostic biomolecular markers could greatly simplify, accelerate, and objectify the entire healing process, from diagnosis and process monitoring to verification and timely correction of therapy. Today, as a result of technological development of laboratory studies, more than 100 biological units in the general concept of systemic inflammation and infection are being studied as diagnostic markers. The nature of sepsis still remains a mystery.

Key words: sepsis, markers, systemic inflammation.

ИЛ — интерлейкин
ПКТ — прокальцитонин
ПОН — полиорганная недостаточность
СРБ — С-реактивный белок
ССВР — синдром системной воспалительной реакции
PIRO (Predisposition, Infection, Response, Organ disfunction) — стратификационная программа

В настоящее время сепсис изучается как концептуальный синдром, который охватывает все возрастные популяционные группы и сопровождается высокой смертностью в силу трудностей диагностики и тяжелых осложнений. В рамках данной концепции сепсис можно рассматривать как ответ организма на влияние триггеров неоднородной природы, определяющих полиморфизм клинического течения и окончательный прогноз. Несмотря на то что сепсис обычно поражает пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, благоприятный исход все же возможен даже в самых нелегких случаях, а смертность от сепсиса должна рассматриваться как неприемлемо высокая.

Несмотря на серьезные, биологически обоснованные знания патофизиологии септического процесса и системного воспаления, наши попытки контролировать процесс все еще не увенчались успехом.

Современный этап изучения сепсиса начался в 80-х годах прошлого столетия, когда медицинскому сообществу было предложено определение септического синдрома. В 1991 г. на конференции Американской коллегии пульмонологов (ACCP) и Общества реаниматологов (SCCM) предложена концепция синдрома системной воспалительной реакции (ССВР). Определены его критерии: гипертермия <38 °С — гипотермия >36 °С; тахикардия >90 уд/мин; тахипноэ >20/мин или гипервентиляция с p_aCO_2 >32 мм рт.ст.; число лейкоцитов >4000 мм^3, <12 000 мм^3 или незрелых <10%. Клиническое наличие 2 из 4 критериев подтверждает ССВР у пациентов. Сепсис в рамках этой концепции определен как комбинация ССВР с клинически доказанной инфекцией. Концепция ССВР принята медицинским сообществом неоднозначно, с течением времени критерии ССВР признаны неспецифичными и очень чувствительными, присущими как многим неинфекционным заболеваниям и синдромам, так и тяжелым инфекциям, но без клинического развития сепсиса. В 2001 г. на международной конференции SCCM/Европейского общества специалистов по интенсивной терапии (ESICM)/ACCP/Американской коллегии пульмонологов (ATC) приняты окончательные поправки к определению сепсиса и уточнены критерии развития его стадий в рамках новой стратификационной программы PIRO (Predisposition, Infection, Response, Organ disfunction) [1]. Даны четкие определения инфекции (патологический процесс, вызванный появлением в стерильных в норме тканях патогенных или условно-патогенных микроорганизмов) и сепсиса (системный воспалительный синдром в ответ на клинически доказанную или подозреваемую инфекцию). Здесь же предоставлены расширенные клинические симптомы сепсиса и его стадий и впервые указана необходимость использования лабораторных маркеров и их дальнейших поисков. В предложенные расширенные критерии сепсиса введены оценки уровней С-реактивного белка (СРБ), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и прокальцитонина (ПКТ). В 2005 г. на Международной согласительной конференции педи-

Сведения об авторах:
Гардовска Даце Харалдовна — д.м.н., проф., зав. каф. педиатрии

Контактная информация:
Богачёва Валерия Викторовна — н.с. каф. педиатрии; тел.: 371(2)919-5525; e-mail: v.bogacheva@inbox.lv

атров (IPSSC) эти же уточнения приняты для использования в педиатрической практике [2]. В заключительных рекомендациях перечисленных конференций подчеркнуты важность лабораторной диагностики и необходимость разработки точных лабораторных маркеров сепсиса, приемлемых для всех возрастных групп. Поиск высокоточных маркеров сепсиса стал одним из приоритетов исследований воспаления.

Биологические маркеры (биомаркеры) — это характеристики, объективно измеряющие и оценивающие показатели как нормальных биологических процессов, так и патологических процессов или фармакологических ответов на терапевтические вмешательства. Биомаркерами можно также считать любое вещество, структуру или процесс, которые могут быть измерены у человека, и при этом определять возможный прогноз, течение и исход заболевания. Обобщая результаты коллоквиума по биомаркерам, проведенного в рамках Международного форума по сепсису (ISF) в 2005 г., его члены уточнили рекомендации к исследованиям при сепсисе, определили условия стандартизации методологий исследований, необходимых для окончательной ратификации и использования в клинике [3].

Все изучаемые маркеры могут иметь следующие целевые назначения.

1. Диагностические маркеры, подтверждающие наличие или отсутствие заболевания. Эта группа включает большое подмножество скрининговых маркеров.

2. Мониторинговые маркеры, как правило, представляют собой активные молекулы или белки, уровень которых изменяется в соответствии с развитием заболевания или в ответ на лечение.

3. Стратификационные маркеры, изначально определяющие однородную по прогнозу группу риска пациентов.

4. Суррогатные маркеры — косвенные критерии оценки, которые могут использоваться в исследованиях вместо истинных критериев оценки, или клинических исходов («конечных точек», например, выживаемость, ответ на лечение).

Необходимо оценивать прогностическую ценность положительного и отрицательного результатов теста, рассчитывать индекс правдоподобия. Эффективность маркеров должна измеряться с точки зрения их чувствительности и специфичности, а также лабораторными характеристиками. Таким образом, идеальный маркер должен соответствовать конкретной нозологии, степени ее проявления, изменяться в соответствии с развитием синдрома и прогнозировать клинические изменения до их реальных проявлений. При этом он должен легко и быстро воспроизводиться, не нуждаться в больших объемах анализируемого материала, быть дешев и доступен в большинстве клиник.

Исходя из определения сепсиса (ССВР + инфекция) и методических описаний возможных вариантов его развития (сепсис — тяжелый сепсис — септический шок), мы можем предположить заинтересованность в процессе множества биологических параметров. Дифференциальная диагностика симптомов ССВР и системного воспаления с инфекцией очень сложна. Кажущийся идеальным микробиологический контроль не всегда возможен. По результатам многоцентровых исследований, 40% исследований бактериальной культуры у больных сепсисом дают отрицательный результат [4]. К тому же посев бактериальной культуры может занимать несколько дней, что абсолютно не соответствует своевременности принятия клинического решения.

В качестве предполагаемых маркеров сепсиса изучено и охарактеризовано более 170 биологических единиц [5, 6]. В нашем обзоре невозможно упомянуть все предложенное большинство, но необходимо отметить наиболее актуальные биологические единицы и направления исследований.

Наиболее распространенными среди рассматриваемых белков острой фазы воспаления в клинической практике являются СРБ и ПКТ. СРБ является одним из первых маркеров, изучаемым в ассоциации с воспалением и инфекцией. Он описан в 30-х годах прошлого века и широко используется в клинике как неспецифический маркер воспаления. Не является специфичным для инфекционного воспаления, так как выявляется и у неинфекционных больных (ревматические заболевания, сердечно-сосудистые заболевания и т.д.). Однако показано, что повышенные концентрации СРБ коррелируют с риском развития полиорганной недостаточности (ПОН) и неблагоприятного исхода [7]. Контроль изменения его концентрации может быть полезен для оценки ответа на антибактериальную терапию у больных с сепсисом [8]. Представлены данные о повышении специфичности (93,4%) и чувствительности (86,1%) СРБ для инфекций в определенных концентрациях [9]. В исследованиях используется наряду с другими маркерами, в частности с ПКТ [10].

ПКТ все еще не является общепринятым лабораторным маркером сепсиса. Специфичность и чувствительность ПКТ для диагностики сепсиса не являются абсолютными (как правило, менее 90%) независимо от пороговых величин [11]. Показано, что ПКТ более чувствительный маркер сепсиса, чем СРБ [12]. ПКТ изучается очень широко, измерены его концентрации и величины, поэтому он рекомендуется для применения в качестве маркера сепсиса, но не абсолютного, а в ассоциации с дополнительными диагностическими и лабораторными параметрами [13].

В качестве ключевых посредников воспаления исследуются также цитокины. Ряд исследований демонстрирует повышения сывороточных уровней ИЛ-6, 8, фактора некроза опухоли у пациентов с сепсисом [14]. Показано, что повышение уровней ИЛ ассоциируется с полиорганной недостаточности (ПОН) и неблагоприятным исходом [15]. Учитывая патофизиологию цитокинового ряда в воспалении, с использованием лабораторных мультиплексных технологий проведены исследования септического профиля 17 цитокинов одновременно. Продемонстрирована ассоциация повышения уровней ИЛ-1β, 2, 4, 6, 7, 8, 10 и 12, моноцитарного хемотаксического фактора 1-го типа (MCP-1) со степенью тяжести синдрома, развитием ПОН и смертью [16]. Как предиктор неблагоприятного исхода описан и ИЛ-8 [17].

Кластеры дифференцировки (поверхностные антигены) лимфоцитов (CD) — это молекулы, которые действуют как рецепторы или лиганды, обеспечивая реакцию клетки в ответ на стимуляцию, например провоспалительными цитокинами. Из этой группы наиболее изученным является CD64, поскольку представляет рецепторный гликопротеин поверхности нейтрофилов. По результатам опубликованного метаанализа, CD64 может использоваться в качестве маркера бактериальных инфекций во всех возрастных группах, демонстрируя чувствительность и специфичность 63 и 89% соответственно. Однако для окончательного использования их в диагностике необходимы серьезные дополнительные исследования [18]. В этой группе также изучаются CD25 и CD11-b, которые отмечены в качестве маркеров инициального сепсиса у новорожденных. Ни один из них не рассматривался с точки зрения специфичности процесса, однако выявлена их чувствительность в дифференциальной диагностике ССВР и сепсиса [19, 20].

Семейство Toll-подобных рецепторов (TLRs) изучается в контексте активации иммунокомпетентных клеток, возникающей на разных стадиях воспаления. По имеющимся данным, можно судить об их влиянии на связанную с патогеном генерацию молекулярной цепочки сигналов, ведущую к инициации адаптивного иммунного ответа. Их экспрессия стимулирует активацию цитокинового ряда [21]. Специфичность их при септических процессах не изучена.

В тесной связи с TLRs (являются посредниками их синтеза) изучается группа белков с высокой электрофоретической подвижностью — HMGB-1. Этот белок экспрессируется в ядрах иммунокомпетентных клеток в ответ на активацию липополисахаридами бактерий, а антитела к нему играют защитную функцию при воспалительном повреждении. Необходимы дальнейшие исследования [22].

Триггерный рецептор миелоидных клеток 1-го типа (TREM-1) также представляет интерес для исследователей, поскольку является рецепторным белком и принимает участие в воспалительном каскаде реакций моноцит—макрофаг—нейтрофил. Степень его экспрессии увеличивается при бактериальных и грибковых инфекциях, возрастает и у пациентов с сепсисом. Некоторые исследования продемонстрировали его более высокие чувствительность и специфичность, чем у ПКТ и СРБ [23].

Степень экспрессии Fas/Fas-l коррелирует со степенью тяжести процесса и может предполагать риск развития ПОН [24].

Из группы коагуляционных маркеров при сепсисе изучается ингибитор активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1). Он рассматривается в качестве предиктора ПОН, как независимый фактор риска смерти и угрозы развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [25].

Эндотелий является центральным звеном, на базе которого осуществляются все ответы на септические и воспалительные раздражители [26]. Эндотелиальные реакции при сепсисе очень серьезно изучаются. Наиболее известными в этой линии является семейство фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [27, 28]. В качестве маркера сепсиса он ассоциируется с тяжестью процесса (повышение проницаемости сосудистой стенки) и рассматривается как предиктор ПОН. Оксид азота (NO) и его метаболиты изучаются в качестве прогностического фактора развития сепсиса, а значит могут в дальнейшем претендовать на дальнейшее рассмотрение их в качестве диагностических маркеров.

Изучаются септические процессы и с позиции оксидантного стресса [29]. Однако, несмотря на общепринятую концепцию, по этому вопросу также требуются исследования на границе протеомики и медицины [30].

Генетические эпидемиологические исследования демонстрируют сильное влияние генома на исход сепсиса. Возможно в будущем именно генетики объяснят широкий разброс индивидуальных реакций на инфекцию, который уже давно озадачивает клиницистов. С этой точки зрения, генно-протеомико-метаболический подход кажется абсолютно логичным, но, хотя к практическому использованию в клинике этой модели в настоящее время можно отнестись достаточно скептически [31]. Ассоциация поиска маркеров со стратификационной системой PIRO, где уже с точки зрения предрасположенности к развитию сепсиса предлагается исследовать геном септического ответа, очень современна, но вряд ли будет оптимизирована для экспресс-диагностики в ближайшее время, хотя, безусловно, расширит наши знания патофизиологии процесса [32, 33]. Следует отметить, что структура PIRO является очень гибкой и в ее рамках можно разрабатывать различные системные подходы к идентификации и ратификации маркеров сепсиса.

К сожалению, ни один из исследуемых маркеров не является строго специфичным именно для септического процесса. Безусловно, демонстрируя наличие воспаления, маркеры не отражают главную септическую доминанту — инфекцию. Эти же биологические единицы исследуются и при других заболеваниях (онкология, ревматология и т.д.). В течение последних 10 лет поиск одной «золотой молекулы» плавно перешел в поиск оптимальных комбинаций биомолекулярных септических мультиплексных панелей. В то же время появились новые исследования, подтверждающие высокий диагностический уровень таких классических параметров, как, например, подсчет нейтрофилов в периферической крови [34].

Необходимость точной диагностики сепсиса очевидна, но кажется, что на данный момент мы все еще находимся на уровне поиска, сбора и уточнения информации. В силу гетерогенности и неспецифичности синдрома в патофизиологии сепсиса существует еще много «белых пятен». Чтобы их прояснить, требуется интеграция наших усилий и знаний, масштабные исследования и единая методология идентификации маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Opal S.M.* Concept of PIRO as a new conceptual framework to understand sepsis. Pediatr Crit Care Med 2005; 6 (3 Suppl): S55—60.
2. *Goldstein B., Giroir B., Randolph A.* International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005; 6 (1): 2—8.
3. *Marshall J.C., Reinhart K.* International Sepsis Forum; Biomarkers of sepsis. Crit Care Med 2009; 37 (7): 2290—2298.
4. *Vincent J. L., Sakr Y., Sprung C.L. et al.* Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Crit Care Med 2006; 34 (2): 344—353.
5. *Aziz M., Jacob A., Yang W.l. et al.* Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. J Leukoc Biol 2013; 93 (3): 329—342.
6. *Pierrakos C., Vincent J.L.* Sepsis biomarkers: a review. Crit Care 2010; 14 (1): R15.
7. *Lobo S.M., Lobo F.R., Bota D.P. et al.* C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. Chest 2003; 123 (6): 2043—2049.
8. *Schmit X., Vincent J.L.* The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. Infection 2008; 36 (3): 213—219.
9. *Póvoa P., Coelho L., Almeida E. et al.* C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. Clin Microbiol Infect 2005; 11 (2): 101—108.
10. *Aikawa N., Fujishima S., Endo S. et al.* Multicenter prospective study of procalcitonin as an indicator of sepsis. J Infect Chemother 2005; 11 (3): 152—159.
11. *Műller F., Christ-Crain M., Bregenzer T. et al.* Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: a prospective cohort trial. Chest 2010; 138 (1): 121—129.
12. *Simon L., Gauvin F., Amre D.K. et al.* Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2004; 39 (2): 206—217.
13. *Giamarellos-Bourboulis E.J., Mega A., Grecka P. et al.* Procalcitonin: a marker to clearly differentiate systemic inflammatory response syndrome and sepsis in the critically ill patient? Intensive Care Med 2002; 28 (9): 1351—1356.
14. *Pinsky M.R., Vincent J.L., Deviere J. et al.* Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. Chest 1993; 103 (2): 565—575.
15. *Oberholzer A., Souza S.M., Tschoeke S.K. et al.* Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. Shock 2005; 23 (6): 488—493.
16. *Bozza F.A., Salluh J.L., Japiassu A.M. et al.* Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. Crit Care 2007; 11 (2): R49.
17. *Mera S., Tatulescu D., Cismaru C. et al.* Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis. APMIS 2011; 119 (2): 155—163.
18. *Cid J., Aguinaco R., Sánchez R. et al.* Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. J Infect 2010; 60 (5): 313—319.
19. *Saito K., Wagatsuma T., Toyama H. et al.* Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. Tohoku J Exp Med 2008; 216 (1): 61—68.
20. *Nupponen I., Andersson S., Järvenpää A.L. et al.* Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis. Pediatrics 2001; 108 (1): E12.
21. *Ishii K.J., Akira S.* Toll-like Receptors and Sepsis. Curr Infect Dis Rep 2004; 6 (5): 361—366.
22. *Karlsson S., Pettilä V., Tenhunen J. et al.* HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. Intens Care Med 2008; 3 (6): 1046—1053.

23. *Jie Zhang, Danyang She, Dan Feng et al.* Dynamic changes of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) reflect sepsis severity and can predict prognosis: a prospective study. BMC Infect Dis 2011; 11: 53.
24. *Doughty L., Clark R. S., Kaplan S.S. et al.* sFas and sFas ligand and pediatric sepsis-induced multiple organ failure syndrome. Pediatr Res 2002; 52 (6): 922—927.
25. *Madoiwa S., Nunomiya S., Ono T. et al.* Plasminogen activator inhibitor 1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. Int J Hematol 2006; 84 (5): 398—405.
26. *Goldenberg N.M., Steinberg B.E., Slutsky A.S., Lee W.L.* Broken barriers: a new take on sepsis pathogenesis. Sci Transl Med 2011; 3 (88): 88ps25.
27. *Pickkers P., Sprong T., Eijk Lv. et al.* Vascular endothelial growth factor is increased during the first 48 hours of human septic shock and correlates with vascular permeability. Shock 2005; 24 (6): 508—512.
28. *Yang K.Y., Liu K.T., Chen Y.C. et al.* Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 levels predict outcomes of pneumonia-related septic shock patients: a prospective observational study. Crit Care 2011; 15 (1): R11.
29. *Huet O., Dupic L., Harrois A., Duranteau J.* Oxidative stress and endothelial dysfunction during sepsis. Front Biosci 2011; 16: 1986—1995.
30. *von Dessauer B., Bongain J., Molina V. et al.* Oxidative stress as a novel target in pediatric sepsis management. J Crit Care 2011; 26 (1): 103.e1—7.
31. *Holmes C.L., Russell J.A., Walley K.R.* Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. Chest 2003; 124 (3): 1103—1115.
32. *Wong H.R., Salisbury S., Xiao Q. et al.* The pediatric sepsis biomarker risk model. Crit Care 2012; 16 (5): R174.
33. *Wong H.R.* Genetics and Genomics in Pediatric Septic Shock. Crit Care Med 2012; 40 (5): 1618—1626.
34. *Nierhaus A., Klatte S., Linssen J. et al.* Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between CCBP and sepsis — a prospective, observational study. BMC Immunol 2013; 14: 8.

Поступила 15.06.2013