

Факторы риска, патогенез, принципы диагностики	297
Цитокины в диагностике сепсиса	299
Прокальцитонин	299
LAL тест	300
Натрийуретические пептиды	301

NEW

Сепсис описывают как комплексный клинический синдром, который является результатом опасного повреждающего ответа организма на инфекцию. Сепсис развивается, когда начальный соответствующий ответ организма на инфекцию усиливается и становится неконтролируемым. Клинические проявления включают лихорадку, спутанное сознание, кратковременную гипотензию, уменьшение диуреза или необъяснимую тромбоцитопению. При отсутствии соответствующего лечения у пациента может развиться дыхательная или почечная недостаточность, нарушения свертывания крови и сильная гипотензия. По данным американских и европейских обзоров, частота сепсиса колеблется от 2 до 11% от всех госпитализированных больных или больных, находившихся в палатах интенсивной терапии. Несмотря на наличие современных терапевтических средств, летальность от сепсиса составляет приблизительно 30%, для пожилых пациентов – 40%, а у пациентов с более тяжелым синдромом (септическим шоком) – 50% и выше. Необычайно важную проблему представляет собой неонатальный сепсис. Обычно очаги инфекции расположены в легких, абдоминальных полостях, мочевом тракте, или имеют место первичные инфекции кровяного русла.

Факторы риска, патогенез, принципы диагностики

Наиболее высока опасность сепсиса в детском и преклонном возрасте, у пациентов с сахарным диабетом, злокачественными новообразованиями, тяжелой кровопотерей, обширными травмами и ожогами, при переохлаждении и перегревании организма, воздействии ионизирующего излучения, аллергии, др.

Микробиологическая диагностика проводится примерно в половине случаев сепсиса; при этом около 60% приходится на грамотрицательные бактерии (кишечные палочки, клебсиеллы, синегнойные палочки), остальное – на грамположительные бактерии (стафилококки и стрептококки).

Сегодня существуют разные концепции, определяющие понятие сепсиса (см. например, ACCP/SCCM Consensus Conference Sepsis Definition Crit Care Med. 1992 Jun; 20(6):864-74); 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, Levy MM et al., Crit. Care Med. 2003, 31(4): 1250-1256)).

Говоря в целом, сепсис является кульминацией комплексных взаимодействий между микрооргани-

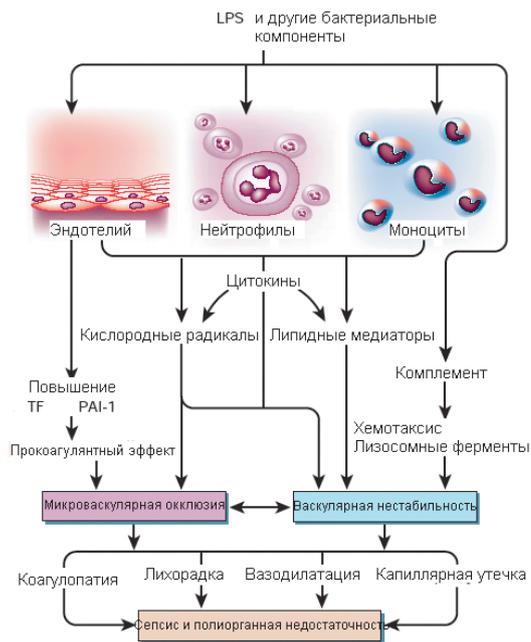
змами-патогенами и иммунной, свертывающей системами организма (см. табл. и рис.).

Первым барьером иммунной защиты от патогенных микроорганизмов являются система комплемента, белки острой фазы, цитокины, моноциты, макрофаги, нейтрофилы и NK-клетки (клеточные элементы иммунитета) и т. д. Если эта защита окажется несостоятельной, то воспалительная реакция выходит из-под контроля и может привести либо к неуправляемому микробному размножению, либо к повреждению тканей организма, сосудистому коллапсу и мультиорганной недостаточности. Взаимодействие между бактериями и иммунными клетками приводит к экспрессии рецепторов на поверхности последних. Компоненты мембраны бактерий взаимодействуют со специфическими Toll-like рецепторами (TLR), экспрессированными на клетках иммунной системы. Рецепторы активируют межклеточные сигнальные взаимодействия и факторы транскрипции (NF- κ B, AP-1, Fos, Jun) в результате чего происходит экспрессия генов иммунного ответа. Они высвобождают многочисленные молекулы-эффекторы, такие как цитокины. Последние играют существенную роль «дирижера» в регуляции факторов

как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа на внедрившиеся в организм патогенные агенты.

Так как при сепсисе отсутствуют специфические клинические симптомы и признаки, то его диагностика часто представляет собой сложную задачу. Диагностика базируется на совокупности клинических, лабораторных, биохимических и бактериологических данных с учетом того, что сепсис есть динамический процесс, часто развивающийся по непрогнозируемому сценарию. Степень полиорганной дисфункции может быть оценена по бальным шкалам, в которых учитываются респираторные, коагуляционные, кардиоваскулярные, печеночные и почечные показатели (например, шкала SOFA для оценки недостаточности связанных с сепсисом органов). Микробиологическая диагностика сепсиса является главной в выборе адекватных режимов антибактериальной терапии. Обычно используемое на практике микробиологическое исследование крови требует значительных затрат времени. При этом отрицательные результаты не всегда исключают сепсис. Кроме того, этот метод не позволяет выявить системное воспаление или органную недостаточность.

Патогенез шока (по Cohen, 2002)



Большую помощь в диагностике оказывает определение концентрации прокальцитонина, интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухолей (TNF-α), которые при сепсисе закономерно повышаются. При синдроме системной воспалительной реакции (SIRS), сопровождающем бактериальную инфекцию, в первую очередь

увеличивается уровень IL-6 и TNF-α в сыворотке крови, затем через несколько часов после повышения концентрации цитокинов возрастает уровень прокальцитонина. При этом снижение уровня прокальцитонина по сравнению с С-реактивным белком происходит значительно раньше.

Таким образом, в последнее время становится все более актуальным поиск новых биохимических маркеров сепсиса, которые позволяли бы диагностировать заболевание на самых ранних стадиях, оценивать его тяжесть, осуществлять мониторинг в ходе лечения и прогнозировать исход.

Пути и маркеры сепсиса. (по Russell, 2006)

Пути развития сепсиса	Маркеры*
Врожденный иммунитет	TLR-2, TLR-4 Моноциты, макрофаги Нейтрофилы
Адаптивный иммунитет	В-клетки (плазматические клетки и иммуноглобулины) CD4 T-клетки (Th1, Th2)
Провоспалительный	TNF-α IL-1β IL-6 Простагландины, лейкотриены Брадикинин Фактор активации тромбоцитов Протеазы (например, эластаза) Оксиданты Оксид азота
Прокоагулянтный	Низкий уровень протеина С Низкий уровень протеина S Низкий уровень антитромбина III Низкий уровень ингибитора пути тканевого фактора Повышенный уровень тканевого фактора Повышенный уровень ингибитора активатора пламиногена 1 (PAI-1)
Противовоспалительный	IL-10 Рецепторы TNF-α
Гипоксия	Индукцируемый при гипоксии фактор 1α VEGF
Иммуносупрессия и апоптоз	Апоптоз лимфоцитов Апоптоз интестинальных эпителиальных клеток
Эндокринный	Низкий уровень кортикостероидов Недостаточность вазопрессина Гипергликемия

* Суперантигены: TSST-1, стрептококковый экзотоксин (например, стрептококковый пирогенный экзотоксин А) липополисахариды (эндотоксин)

Цитокины в диагностике сепсиса

Цитокинам отводится ведущая роль в развёртывании медиаторного механизма сепсиса. При сепсисе имеет место неотрегулированная экспрессия различных цитокинов, поэтому с целью коррекции нарушенных функций макрофагов иммуномодуляторами необходимо подходить к оценке нарушений соотношения цитокинов комплексно и анализировать их уровни в динамике. Считается, что ведущую роль в развитии генерализованного воспалительного каскада при сепсисе играют такие цитокины, как **TNF- α , IL-1 β , -2, -6, -8.***

У большинства больных сепсисом в начальных стадиях выявляется устойчивое повышение в крови этих цитокинов. Они обладают широким спектром биологического действия, проявляющегося в многообразных изменениях метаболизма, гемопоеза, свойствах сосудистой стенки, функции регуляторных систем, в первую очередь ЦНС. По мере снижения микробной нагрузки макрофаги начинают синтезировать IL-10, растворимые рецепторы TNF, рецепторы IL-1. Их действие направлено на подавление генерализованной воспалительной реакции.

Чувствительность и специфичность различных маркеров в диагностике сепсиса у взрослых и новорожденных

Маркер	Группа	Чувствительность, %	Специфичность, %
TNF α	Взрослые	55	66
	Новорожденные	67-88	43-86
IL-6	Взрослые	51-86	53-79
	Новорожденные	71-100	43-96
IL-1 α	Взрослые	33	89
	Новорожденные	93	92
IL-8	Взрослые	57-68	57-93
	Новорожденные	92	70
CRP	Взрослые	35-89	18-81
	Новорожденные	43-96	80-100
PCT	Взрослые	65-97	48-94
	Новорожденные	77-99	62-91

Прокальцитонин (PCT)

PCT представляет собой полипептид с м.м. 14,5 кДа, который является неактивным предшественником кальцитонина. В норме PCT образуется из пре-прокальцитонина в С-клетках щитовидной железы под действием кальций-зависимых факторов. У здоровых лиц весь образующийся PCT преобразуется в кальцитонин и практически не поступает в кровоток.

При тяжелых бактериальных инфекциях и сепсисе происходит повышение концентрации PCT в крови (при этом имеет место экстракратиреоидный синтез PCT – в лейкоцитах; нейроэндокринных клетках легких, кишечника и печени). Основные индукторы синтеза PCT – ЛПС (эндотоксины) и провоспалительные цитокины IL-6 и TNF- α . Показано, что при грибковых и вирусных инфекциях, аллергических и аутоиммунных заболеваниях уровень PCT не повышается.

Необходимо отметить, что содержание PCT в крови увеличивается только при системном ответе на инфекцию, но не при наличии локальных очагов воспаления. То есть PCT не является маркером наличия инфекции как таковой, а отражает степень ее генерализации. Определение концентрации PCT целесообразно проводить у пациентов с наличием или риском развития признаков SIRS, нарушениями перфузии, шоком невыясненного генеза, нарушениями функционирования органов. Для диагностики неонатального сепсиса PCT определяют на основании клинических признаков, свидетельствующих об опасности внутриутробного инфицирования. Следует отдельно отметить, что поскольку уровень PCT в первые два дня жизни в норме повышен, то следует пользоваться специальными референсными значениями для новорожденных.

Белок, связывающий липополисахариды (LBP)

LBP относится к белкам острой фазы. Он синтезируется гепатоцитами и играет важнейшую роль в презентации ЛПС грамотрицательных бактерий системе врожденного иммунитета. Комплекс LBP-ЛПС связывается с CD14 моноцитов/макрофагов, в результате чего запускается развитие воспалительного ответа. Уровень LBP возрастает в соответствии с развитием тяжести инфекции/сепсиса. Пик концентрации LBP в плазме наблюдается через 6-12 ч после подозрения на сепсис, а период полужизни этого белка в сыворотке составляет 12-24 ч. Таким образом, определение концентрации LBP может заполнить диагностическое окно между снижением концентрации IL и началом роста содержания С-реактивного белка. Повышенные концентрации LBP отмечены у взрослых пациентов с SIRS при сепсисе, вызванном как грам(+), так и грам(-) бактериями. У зрелых новорожденных с неонатальными бактериальными инфекциями (НБИ) также наблюдаются повышенные концентрации LBP. У недоношенных детей, родившихся не ранее 28 недели гестации, LBP можно использовать для диагностики НБИ. Кроме того, показано, что, в отличие от цитокинов, на уровень LBP не влияет стресс при родах. Для ранней диагностики НБИ наиболее оптимальной представляется оценка LBP в комбинации с IL-6 и -8.

* **См. также:** раздел «Цитокины», стр. 401

sCD14

CD14 представляет собой гликопротеин с м.м. 55 кДа, который является рецептором ЛПС. Он экспрессируется, в основном, на поверхности моноцитов/макрофагов, полиморфноядерных нейтрофилов, то есть клеток, ответственных за элиминацию ЛПС и бактерий. Плазменный белок LBP играет важную роль в ЛПС-CD14 опосредованной активации фагоцитов. Кроме связанной с мембраной формы существует растворимая форма CD14 (sCD14), которая также участвует в индуцированной ЛПС активации клеток. В сыворотке здоровых лиц содержится в среднем 2-4 мкг/мл sCD14. При инфекционных заболеваниях концентрация sCD14 возрастает. У здоровых новорожденных наблюдается сниженный уровень sCD14 в пуповинной крови или плазме в первый день жизни, а затем он достигает значений, сравнимых с таковыми для здоровых взрослых. Кроме того, у новорожденных наблюдается в меньшей степени избыточное высвобождение sCD14 во время инфекции, в отличие от взрослых с сочетанной (и множественной) травмой или сепсисом.

LAL тест

Эндотоксин грамотрицательных бактерий (ЛПС) может быть определен в сыворотке крови количественно с помощью высокоспецифического LAL-теста. Frederick Bang наблюдал, что бактерии вызывают внутрисосудистую коагуляцию у американского мечехвоста, *Limulus polyphemus*. В сотрудничестве Levin и Bang обнаружили, что агент, ответственный за свертывание, постоянно присутствует в амебоцитах мечехвоста, (циркулирующих клетках крови), апириген (бактериальный эндотоксин) энзиматически вызывает помутнение и гелеобразование.

ЗАО «БиоХимМак» предлагает высоко чувствительные и специфичные наборы Hbt LAL-тест для хромогенного количественного определения эндотоксина в биологических жидкостях.

Эндотоксин представляет собой полимер, биологическая активность которого во многом зависит от его липидного компонента (липид А) и концентрации одного из белков сыворотки, т.н. липополисахаридсвязывающего белка (LBP). Только в виде комплекса с этим белком эндотоксин способен взаимодействовать со специфическим рецептором макрофагов. Это взаимодействие сопровождается активацией макрофагов и синтезом провоспалительных цитокинов. Клинические исследования указывают на важную прогностическую роль определения уровня эндотоксина в сыворотке крови больных до начала антибактериальной терапии. Эти исследования выявили прямую корреляционную зависимость между уровнем эндотоксина, тяжестью полиор-

ганной недостаточности и неблагоприятным исходом у больных генерализованными инфекциями.

С-реактивный белок (СРБ)

При любых заболеваниях, либо после операции присоединение бактериальной инфекции, будь то местный процесс или сепсис, сопровождается повышением уровней белков острой фазы. СРБ повышается спустя 6-8 ч после начала сепсиса. При подозрении на сепсис у новорожденных концентрация СРБ более 12 мг/л является указанием на немедленное начало противомикробной терапии, но следует помнить, что у части новорожденных бактериальная инфекция может и не сопровождаться резким повышением концентрации СРБ.

Бактерицидный белок, повышающий проницаемость клеток (ВРІ)

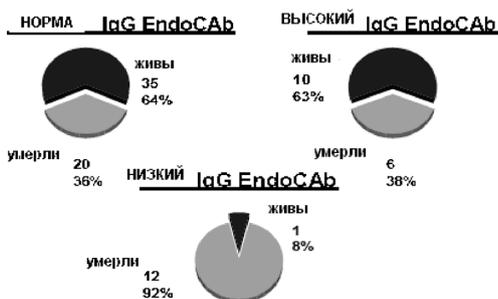
ВРІ синтезируется полиморфноядерными лейкоцитами. Он способен быстро высвобождаться из клеток и связываться с ЛПС. ВРІ конкурирует с LBP за связывание с ЛПС и в этом плане функционирует как антагонист LBP. LBP синтезируется конститутивно и в нормальной плазме присутствует в большем количестве, чем ВРІ. У некоторых пациентов с сепсисом содержание ВРІ в плазме возможно слишком мало для того, чтобы нейтрализовать ЛПС; тем не менее, в очагах инфицирования обычно присутствует значительное количество этого белка, что обеспечивает нейтрализацию эндотоксина. Показано, что повышенные уровни ВРІ характерны для сепсиса, вызванного как грам(+), так и грам(-) бактериями, причем и у взрослых пациентов, и у детей. Содержание ВРІ в гранулах лейкоцитов взрослых в 3-4 раза выше, чем у новорожденных. Однако показано, что в плазме новорожденных с ранними клиническими проявлениями сепсиса уровень ВРІ значительно повышен и сравним с таковым у детей старшего возраста с септическим синдромом, а также у взрослых с бактериемией или пневмонией. ВРІ является полезным маркером системного воспаления и бактериальной инфекции. Определение концентрации ВРІ и соотношения ВРІ/нейтрофилы может быть использовано в оценке тяжести сепсиса.

Антитела к Core-региону эндотоксина (Endotoxin Core Antibody – EndoCab)

SIRS может индуцироваться эндотоксинами. В организме человека вырабатываются антитела к Core-региону эндотоксина (EndoCab), которые обеспечивают защиту при хирургических вмешательствах и сепсисе. Показано, что снижение концентрации EndoCab IgG ассоциировано с высокой смертностью у пациентов с септическим синдромом. Определение начальной концент-

рации EndoCab может быть полезным инструментом для выявления пациентов с сепсисом, которым потенциально показана нейтрализующая эндотоксины терапия.

Частота смертности при сепсисе в сравнении с уровнем EndoCab у пациентов с сепсисом абдоминального происхождения



Barclay, 1995

Натрийуретические пептиды

Семейство натрийуретических пептидов представлено структурно родственными пептидами из 22-53 аминокислот и включает атриальный натрийуретический пептид (ANP), мозговой или натрийуретический пептид В типа (BNP) и натрийуретический пептид С типа (CNP). Эти пептиды обладают вазоактивностью с вазодилататорными и диуретическими свойствами, и играют важную роль в кардиоваскулярном гомеостазе. Показано, что NT-proANP и NT-proBNP являются полезными маркерами для оценки миокардиальной дисфункции при сепсисе. Уровень NT-proBNP коррелирует с уровнем PCT и CRP у пациентов с сепсисом. Высокая концентрация NT-proBNP в плазме указывает на повышенный риск летального исхода.*

TREM

TREM-1 (триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках) – 30kDa мономерный трансмембранно-активируемый рецептор, который экспрессируется нейтрофилами, моноцитами и различными субпопуляциями макрофагов. Во время инфекций, вызванных Грам-положительными и Грам-отрицательными бактериями и грибами, экспрессия мембранно-связанного TREM-1 значительно возрастает. Растворимая форма TREM-1 также высвобождается из клеток и может быть количественно определена в биологических жидкостях. TREM-1 является важным регулятором в системе врожденного иммунитета, осуществляя усиление воспаления в ответ на инфекцию. Естественный лиганд TREM-1 не известен. Однако, активация TREM-1 на моноцитах агонистом антител в присутствии лиганда Toll-подобного рецептора (TLR) синергистически усиливает продукцию провоспалительных хемокинов и цитокинов, а также снижает продукцию анти-воспалительного IL-10. Активация TREM-1 моноцитов индуцирует дифференциацию первичных моноцитов в незрелые дендритные клетки. На нейтрофилах связывание TREM-1 индуцирует дегрануляцию, дыхательный взрыв и фагоцитоз синергистически с лигандами TLR. Растворимый TREM-1 может служить клиническим маркером для дифференциации сепсиса от воспалительных состояний неинфекционной природы. Более того, в модельных экспериментах на мышах было показано, что блокада TREM-1 оказывала протективное действие против септического шока. Следовательно, TREM-1 можно считать потенциальной мишенью для терапии при сепсисе.

• **См. также:**
раздел
«Кардиомаркеры»,
стр. 5

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
НК320	HBT	sCD14, 192
НК314	HBT	Бактерицидный белок, повышающий проницаемость (BPI), 192
НК315	HBT	LPS-связывающий белок (LBP), 192
НК504	HBT	Антитела к core-региону эндотоксина (EndoCab test), 96
НИТ301	HBT	Тест ENDOBLOCK: скрининг ингибиторов связывания эндотоксинов с LBP, 96
НИТ302	HBT	LAL-тест (определение эндотоксинов – хромогенный тест, 405 нм), 3x96
HE003	HBT	Свободная от эндотоксинов деионизированная вода, 1л
106-0250	BRANMS	Прокальцитонин, 25
BMS223	Bender Medsystems	Фактор некроза опухолей (TNF)-α, 96
BMS213	Bender Medsystems	Интерлейкин-6, 96
BMS204	Bender Medsystems	Интерлейкин-8/NAP, 96
BMS224	Bender Medsystems	Интерлейкин-1β, 96
BMS215	Bender Medsystems	Интерлейкин-10, 96
7033	Biomerica	C-реактивный белок, hs, (0,1 мг/л) 96
442-0892	Biomedica	Предсердный натрийуретический пропептид альфа (proANP), 96
442-0852	Biomedica	Мозговой натрийуретический пропептид (BNP-fragment), 96
442-1204	Biomedica	Мозговой натрийуретический пропептид (Nt-proBNP), 96
DTRM10	R&D	TREM-1, 96
KAC2231	Biosource	Эотаксин, 96