

**ЗНАЧЕНИЕТО НА НЯКОИ БИОМАРКЕРИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С УСЛОЖНЕНИ
ИНТРААБДОМИНАЛНИ ИНФЕКЦИИ**

**Евгени Димитров¹, Емил Енчев¹, Красимира Халачева²,
Георги Минков¹, Йовчо Йовчев¹**

¹*Клиника по хирургични болести, УМБАЛ „Проф. д-р Стоян Киркович”
Стара Загора, България*

²*Катедра по молекулярна биология, имунология и медицинска генетика, Медицински
факултет, Тракийски университет Стара Загора, България*

*Кореспонденция: Д-р Евгени Николаев Димитров, Клиника по хирургични болести,
УМБАЛ „Проф. д-р Стоян Киркович” Стара Загора, ул. Генерал Столетов 2, България
e-mail: evgeni_d1984@yahoo.com, тел: 0887609943*

РЕЗЮМЕ

Усложнените интраабдоминални инфекции (уИаИ) все още се свързват с неприемливо високи нива на смъртност, представлявайки основен проблем в спешната хирургия. Ранната оценка на тези инфекции е важна за определяне на тежестта им и крайния изход. В последните години ясно личи нуждата от подобряване на диагностиката и лечението им, тъй като всяко едно забавяне може да доведе до циркулаторен колапс, полиорганна недостатъчност и в крайна сметка до смърт. Биомаркерите представляват едно надеждно средство за справяне с този проблем. С-реактивният протеин и прокалцитонинът вече са придобили широко приложение в клиничната практика. Други маркери като CD64 и HLA-DR са обект на различни клинични проучвания и до момента показват добър диагностичен и прогностичен потенциал. В нашия обзор ние стигаме до заключението, че биомаркерите имат значима роля за оптимизиране на диагностиката и прогнозата на уИаИ като използването на комбинации между утвърдени и потенциални маркери заслужава да бъде обект на по-задълбочени проучвания.

Ключови думи: биомаркери, усложнени интраабдоминални инфекции, сепсис, смъртност

ВЪВЕДЕНИЕ

До началото на миналия век усложнените интраабдоминални инфекции (уИаИ) са се свързвали с нива на смъртност достигащи 90 % (1). През последните сто години благодарение на по-агресивните хирургични методи, на интензивното лечение, както и на наличието на широка гама от антибиотични медикаменти, смъртността е намалена до < 25% (2).

Интраабдоминалните инфекции представляват широк диапазон от патологични състояния с възможно засягане на всеки един вътрекоремнен орган и наличие на перитонит. Те също така включват интраперитонеални, ретроперитонеални и интрапаренхимни абсцеси (3).

Разделят се на неусложнени и усложнени в зависимост от разпространението на инфекцията. Неусложнените включват интрамурално възпаление на даден коремнен орган без нарушаване на анатомичната му цялост. Усложнените интраабдоминални инфекции се разпространяват от засегнатия орган към перитонеума и водят до перитонеално възпаление с проява на локален или дифузен перитонит (4). Самият термин „усложнени интраабдоминални инфекции” описва широка хетерогенност от пациентски популации, което затруднява създаването на общ режим на лечение и показва нуждата от индивидуален подход.

Сепсисът представлява водеща причина за смъртност при пациенти с уИаИ (5) като забавянето в диагнозата и лечението може да доведе до септичен шок и полиорганна недостатъчност. Ранната диагноза и навременно приложената терапия

могат да подобрят крайния изход. Ето защо има сериозна необходимост от екзактни методи, които да успеят да диагностицират сепсиса в ранен стадий, да дадат прогностична оценка и да определят агресивността в консервативната терапия и хирургичното поведение. Големи надежди за справяне с този проблем към момента се отдават на групата на биомаркерите.

БИОМАРКЕРИ

През 2010 година Pierrakos и Vincent (6) установяват, че в литературата са описани близо 180 различни биомаркери за сепсис. В момента това число вероятно е по-голямо. В зависимост от клиничната употреба маркерите се разделят на групи – диагностични, прогностични, проследващи, сурогатни, стратификационни. Някои биомаркери са вече налични за клинична употреба при сепсис, но ефикасността им е лимитирана от липсата на задоволителна чувствителност и специфичност.

БИОМАРКЕРИ НАВЛЕЗЛИ В КЛИНИЧНАТА ПРАКТИКА

Прокалцитонинът (PCT) и С-реактивният протеин (CRP) са най-широко използваните биомаркери в световен план, но за съжаление имат ограничени способности в диференциацията между сепсис и други възпалителни заболявания, както и в прогнозирането на крайния изход.

С-реактивен протеин

Открит е за пръв път от Tillet & Francis (7) през 1930 при пациент с лобарна пневмония. CRP е неспецифичен маркер за възпаление, който се повишава след операции, изгаряния, миокарден инфаркт и ревматологични заболявания (8). Понастоящем се използва като клиничен маркер за определяне наличието на инфекция като може да различи вирусна от бактериална инфекция (9). Чувствителността и специфичността на CRP като маркер за бактериална инфекция са съответно 70-92 % и 40-70 % (10).

Povoa et al. и Orati et al. (11,12) съобщават за високите му чувствителност и специфичност при диагностиката на сепсис. Граничните му стойности за диагноза „сепсис“ варират между 80 - 100 мг/л при чувствителност 71-93 % и специфичност 40-80 %.

Много проучвания изследват CRP като маркер за интраабдоминална инфекция или постоперативни усложнения. Mustard и кол. (13) съобщават със 75 % точност наличие на инфекциозно усложнение при стойности на CRP > 15 мг/л след 4-ти следоперативен ден. Ohzato и кол. (14) показват CRP като полезен маркер за оценка на терапевтичния отговор. Almeida и кол. (15) установяват, че нива след 5-и следоперативен ден > 100 мг/л предполагат септично усложнение (инсуфициенция на анастомозата). Silvestre и кол. (16) показват, че CRP е полезен за ранната детекция на следоперативните инфекциозни усложнения. Scerpanovic и кол. (17) установяват, че при пациенти с CRP > 135 мг/л след 3-и постоперативен ден трябва да се търси усложнение и по-конкретно инсуфициенция на анастомозата.

Прокалцитонин

Прокалцитонинът е прохормон на калцитонина, който се секретира от паренхимни клетки - чернодробни, бъбречни, мускулни клетки и адипоцити в отговор на бактериални токсини, което води до повишаване на серумните му нива в рамките на 2-4 часа. В контраст на това концентрацията му при вирусни инфекции се понижава (18). Биологичният му полуживот е 22-26 часа, даващ му предимство пред CRP и

другите острофазови белтъци (19). Повишени нива на PCT се наблюдават и при неинфекциозни състояния, например след травма. Плазмените му нива при здрави индивиди са доста ниски (0,1 нг/мл). За изключване на сепсис и системно възпаление концентрацията му трябва да $\leq 0,2$ нг/мл. Гранична стойност $\geq 0,5$ нг/мл предполага наличие на сепсис (20).

В момента прокалцитонинът се използва като маркер за насочване на емпиричната терапия при пациенти с остри екзацербации на хроничен бронхит, придобити в обществото пневмонии и сепсис. Най-полезното му приложение до момента е използването му като маркер, определящ кога антибактериалната терапия може да бъде прекратена (21).

Голям брой проучвания изследват PCT като прогностичен маркер при интраабдоминални инфекции. Reith и кол. (22) през 2000 г. публикуват данни от 246 пациента с вторичен перитонит, при които се вижда, че прокалцитонинът е много добър маркер за предикция на септичните усложнения и е прогностично значим, поради факта, че разграничава починалите от преживелите с чувствителност и специфичност, съответно 84% и 91%. Rau и кол. (23) през 2007 година установяват, че мониторирането на серумните нива на PCT е бърз и надежден метод за оценка на септичните усложнения и за прогнозата на крайния изход при пациенти с вторичен перитонит. Elias Dominguez и кол. (24) показват прокалцитонина като надежден прогностичен биомаркер при интраабдоминални инфекции.

Мета-анализ (25) от 2013, включващ 3244 критично болни пациенти показва, че прокалцитонинът може да бъде полезен биомаркер в ранното диагностициране на сепсис с чувствителност 77% и специфичност 79% , но стойностите му трябва да бъдат интерпретирани в контекста на клиничните и микробиологичните резултати.

ПОТЕНЦИАЛНИ БИОМАРКЕРИ

В настоящия момент има ясна необходимост от подобряване на диагностиката и прогнозирането при пациенти, влизащи в групата „високорискови”. Последните години два биомаркера, които биха могли да помогнат в такива случаи, а именно CD64 и HLA-DR показват обещаващи резултати в различни проучвания.

CD64

Левкоцитният повърностен антиген CD64 представлява Fc рецептор ((FcγRI)), който свързва IgG. Участва във вродения и придобития имунен отговор, стимулирайки както фагоцитозата, така и антитяло-медираната цитотоксичност (26). При липса на инфекция експресията му е ниска, но веднъж активирана от проинфламаторните цитокини, бързо достига до 10-кратно по-високи нива (27). Повишението на CD64 върху неутрофилната повърхност се счита за ранен етап на вродения имунен отговор, поради което може да отрази най-ранните фази на инфекцията и да помогне за ранна диагноза и прогноза (28). CD64 индексът е предложен като предиктивен за позитивни бактериални култури, както и като полезен тест за поведението при сепсис и други значими бактериални инфекции (29).

Редица проучвания показват CD64 като надежден биомаркер за детекция на инфекции (29,30,31,32). От мета-анализ (33) през 2013 година, включващ 26 проучвания с общо 3944 пациенти, става ясно че експресията на CD64 е обещаващ и значим маркер за диагностициране на бактериална инфекция с чувствителност 76 % и специфичност 85%. Поради различаващите се гранични стойности на CD64 са нужни по-големи проспективни изследвания в бъдеще. Мета-анализ (34) от 2015 година, включващ 8 проучвания и 1986 пациенти показва, че експресията на CD64 е полезен

маркер за ранната диагноза на сепсис при критично болни с чувствителност и специфичност, съответно 76 % и 85 %. Авторите не могат да дадат идеална гранична стойност, поради различните методи на изследване и липсата на пълни данни.

Някои автори съобщават, че CD64 има не само добра диагностична стойност, но може да оцени и тежестта на сепсиса (35,36). При пациенти със септичен шок се наблюдават повишени нива на CD64 експресия.

Наличната литература за прогностичната стойност на този биомаркер предоставя противоречива информация. Според някои публикации смъртността може да се предвиди от ниски нива на CD64 експресия (37,38), докато според други високите нива са маркер за благоприятна прогноза (39,40). Това може да се обясни с малкия брой включени пациенти, както и самият дизайн на проучванията.

HLA-DR

HLA-DR е гликозилиран повърхностен мембранен протеин, който се експресира върху антиген представящи клетки, най-вече върху моноцити. Главната му роля при инфекция е антигенното представяне на Т-хелперните клетки, което води до освобождаване на проинфламаторни цитокини, но при пациенти със сепсис този път може да бъде нарушен и да настъпи имунодепресия (41).

Моноцитната експресия на HLA-DR от години е изучавана като прогностичен биомаркер при сепсис. В различни проучвания Docke, Cheadle и Volk (41,42,43) показват, че намалената експресия на HLA-DR $\leq 30\%$ се свързва с висока смъртност. През 1995 г. Асадула и колеги (44) изследват неврохирургични пациенти и установяват, че HLA-DR експресията при 14 пациенти, които са развили инфекция е по-ниска в сравнение с пациентите, които са имали неусложнен следоперативен период ($P < .0001$). От 10 пациенти, които са имали $< 30\%$ HLA-DR позитивни моноцити, девет са развили инфекция. Авторите дават заключение, че много ниската експресия на HLA-DR води до висок риск от инфекция. През 1996 г. Volk и кол. (45) проучват моноцитната експресия на HLA-DR при 247 възрастни хирургични пациенти със сепсис. В тази група нива на HLA-DR експресия по-ниски от 30% за пет или повече дни са били свързани с преживяемост от 12%. Това е в контраст с процента на преживяемост от 88% при пациенти, при които намаляването на моноцитната HLA-DR експресия е преходно или не толкова силно. Подобно, пациентите, чиято моноцитна HLA-DR експресия е $< 30\%$, са показали повишен риск от развитие на нозокомиален сепсис, свързан със следоперативен перитонит. През 2006 година Monneret и кол. (46) също така демонстрират при пациенти със септичен шок значителни разлики в експресията на HLA-DR при оцелели и починали; Процентът на моноцити, експресиращи HLA-DR, е бил намален при всички пациенти през първите 48 часа на септичния шок, но на 3-4 ден процентът се е увеличил при оцелелите, за разлика при починалите (43 срещу 18%, $p < 0.001$). В проспективно обсервационно проучване от 2010 г., включващо 209 пациенти със септичен шок Landelle и кол. (47) показват, че персистиращите ниски нива на mHLA-DR експресия са независим маркер, свързан с развитието на вторични нозокомиални инфекции. През 2011 г. Jian-Feng Wu и кол. (48) изследват пациенти с тежък сепсис в хирургично интензивно отделение като определят нивата на mHLA-DR на 0, 3 и 7 ден от приема. Те стигат до заключението, че промяната на mHLA-DR във времето е значим прогностичен маркер за смъртност при пациенти с тежък сепсис.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въпреки значителният прогрес в диагностиката, хирургичното и антимикробното лечение, нивата на смъртност при пациенти с усложнени интраабдоминални инфекции

остават значителни. Биомаркерите имат съществено значение в подобряване на диагностицирането и прогнозата при такива пациенти. Проучването на различни комбинации от традиционни и потенциални биомаркери заслужава по-нататъшни усилия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barie Ps, Hydo IJ, Eachempati sR. Longitudinal outcomes of intra-abdominal infection complicated by critical illness. *surg Infect (larchmt)* 2004; 5(4):365-73.
2. Dellinger EP, Wertz MJ, Meakins JL, et al. Surgical infection stratification system for intra-abdominal infection. Multicenter trial. *Arch Surg* 1985; 120(1):21-9.
3. Menichetti F, Sganga G: Definition and classification of intra-abdominal infections. *J Chemother* 2009.
4. Lopez N, Kobayashi L, Coimbra R. A Comprehensive review of abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery : WJES*. 2011;6:7. doi:10.1186/1749-7922-6-7.
5. Komatsu S, Shimomatsuya T, Nakajima M, Amaya H, Kobuchi T, Shiraishi S, et al. Prognostic factors and scoring system for survival in colonic perforation. *Hepatogastroenterology* (2005).
6. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care*. 2010; 14(1):R15.
7. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* 1930;52:561-71.
8. Vincent JL, Donadello K, Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein. *Crit Care Clin* 2011; 27:241-51.
9. Shaw AC. Serum C-reactive protein and neopterin concentrations in patients with viral or bacterial infection. *J Clin Pathol*. 1991;44(7):596-99.
10. Cho SY, Choi JH Biomarkers of sepsis.. 2014 Mar;46(1):1-12. doi: 10.3947/ic.2014.46.1.1
11. Póvoa P, Almeida E, Moreira P, et al. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med*. 1998;24(10):1052-6.
12. Orati JA, Almeida P, Santos V, Ciorla G, Lobo SM. Serum C-reactive protein concentrations in early abdominal and pulmonary sepsis. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2013;25(1):6-11.
13. Mustard Jr RA, Bohnen JM, Haseeb S, Kasina R. C-reactive protein levels predict postoperative septic complications. *Arch Surg*. 1987;122:69-73.
14. Ohzato H, Yoshizaki K, Nishimoto N, Ogata A, Tagoh H, Monden M, et al. Interleukin-6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein after surgery. *Surgery*. 1992;111:201-9.
15. Almeida AB, Faria G, Moreira H, Pinto-de-Sousa J, Correia-da-Silva P, Maia JC. Elevated serum C-reactive protein as a predictive factor for anastomotic leakage in colorectal surgery. *Int J Surg*. 2012;10:87-91
16. Silvestre et al. Diagnostic accuracy of C-reactive protein and procalcitonin in the early detection of infection after elective colorectal surgery *BMC Infectious Diseases* 2014.
17. Scepanovic MS1, Kovacevic B, Cijan V, Antic A, Petrovic Z, Asceric R, Krdzic I, Cuk V. C-reactive protein as an early predictor for anastomotic leakage in elective abdominal surgery *Tech Coloproctol*. 2013 Oct;17(5):541-7. doi: 10.1007/s10151-013-1013-z. Epub 2013 Apr 26
18. D. N. Gilbert, "Use of plasma procalcitonin levels as an adjunct to clinical microbiology," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 48, no. 7, pp. 2325-2329, 2010
19. M. Limper, M.D. deKruif, A. J. Duits, D. P. M. Brandjes, and E. C.M. vanGorp, "The

- diagnostic role of Procalcitonin and other biomarkers in discriminating infectious from non-infectious ever,” *Journal of Infection*, vol. 60, no. 6, pp. 409–416, 2010.
20. Michael Meisner, M.D et al. 2014 Update on Procalcitonin Measurements.)
 21. F. A. Manian, “Use of procalcitonin to guide duration of antimicrobial therapy in intensive care units: proceed with caution,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 54, no. 4, pp. 578–579, 2012
 22. Reith HB, Mittelkötter U, Wagner R, Thiede A. Procalcitonin (PCT) in patients with abdominal sepsis. *Intensive Care Med* 2000;26(suppl 2):S165-S169.
 23. Rau, MD et al. Evaluation of Procalcitonin for Predicting Septic Multiorgan Failure and Overall Prognosis in Secondary Peritonitis A Prospective, International Multicenter Study FREE Bettina M.. *Arch Surg*. 2007;142(2):134-142
 24. Elías Domínguez-Comesaña et al. Procalcitonin as a marker of intraabdominal infection *Cirugía y Cirujanos* Volume 82, No. 2, March-April 2014.
 25. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013 May;13(5):426-35. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70323-7. Epub 2013 Feb 1
 26. Qureshi SS, Lewis SM, Gant VA, Treacher D, Davis BH, Brown KA. Increased distribution and expression of CD64 on blood polymorphonuclear cells from patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Clin Exp Immunol*. 2001;125(2):258–65
 27. Johannes J.M.L. Hoffmann. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochemia Medica* 2011;21(3):28290. <http://dx.doi.org/10.11613/BM.2011.038>
 28. Davis BH, Olsen SH, Ahmad E, Bigelow NC. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130(5):654–61.
 29. Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, Stewart B, Grief B, Scharnweber G. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. *J Clin Microbiol* 2009;47:3914-9
 30. Gros A, Roussel M, Sauvadet E, Gacouin A, Marqué S, Chimot L, Lavoué S, Camus C, Fest T, Le Tulzo Y. The sensitivity of neutrophil CD64 expression as a biomarker of bacterial infection is low in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2012;38:445-52.
 31. Gibot S et al. 2012 Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient .
 32. Farias MG, de Lucena NP, Dal Bó S, de Castro SM Neutrophil CD64 expression as an important diagnostic marker of infection and sepsis in hospital patients. *J Immunol Methods*. 2014 Dec 1;414:65-8. doi: 10.1016/j.jim.2014.07.011
 33. Shan Li et al. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis / *International Journal of Infectious Diseases* 17 (2013) e12–e23
 34. Wang et al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Critical Care* (2015) 19:245
 35. Livaditi O, Kotanidou A, Psarra A, Dimopoulou I, Sotiropoulou C, Augustatou K, et al. Neutrophil CD64 expression and serum IL-8: sensitive early markers of severity and outcome in sepsis. *Cytokine* 2006;36:283-90.
 36. Hsu KH, Chan MC, Wang JM, Lin LY, Wu CL. Comparison of Fcγ receptor expression on neutrophils with procalcitonin for the diagnosis of sepsis in critically ill patients. *Respirol* 2011;16:152-60
 37. Fischer G, Schneider EM, Moldawer LL, Karcher C, Barth E, Suger-Wiedeck H, et al. CD64 surface expression on neutrophils is transiently upregulated in patients with septic shock. *Intens Care Med* 2001;27:1848-52.

38. Qiqi Chen, Junfeng Shi, Aihua Fei, Feilong Wang, Shuming Pan, Weiwei Wang. 2014 Neutrophil CD64 expression is a predictor of mortality for patients in the intensive care unit. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7(11):7806-7813.
39. Danikas DD, Karakantza M, Theodorou GL, Sakellaropoulos GC, Gogos CA. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis Correlation to CD64 and CD14 antigen expression. *Clin Exp Immunol* 2008;154:87-97.
40. Cid J, García-Pardo G, Aguinaco R, Sánchez R, Llorente A. Neutrophil CD64: diagnostic accuracy and prognostic value in patients presenting to the emergency department. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 2011;30:845-52.
41. Docke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, Volk HD, Kox W (1997) Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 3:678–681.
42. Cheadle WG (1993) The human leukocyte antigens and their relationship to infection. *Am J Surg* 165:75S–81S 7.
43. Volk HD, Thieme M, Heym S, Docke WD, Ruppe U, Tausch W, Manger D, Zuckermann S, Golosubow A, Nieter B (1991) Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease-predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Inst Mitt* 88:208–215.
44. Asadullah K, Woiciechowsky C, Docke WD, et al. Very low monocytic HLA-DR expression indicates high risk of infection–immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy. *Eur J Emerg Med* 1995;2(4):184–90. [PubMed: 9422205].
45. Volk HD, Reinke P, Krausch D, et al. Monocyte deactivation--rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med* Oct;1996 22(Suppl 4):S474–481. [PubMed: 8923092] .
46. Monneret G et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. 2006.
47. Landelle C et al. Low monocyte human leukocyte antigen-DR is independently associated with nosocomial infections after septic shock. 2010.
48. Jian-Feng Wu et al. Changes of monocyte human leukocyte antigen-DR expression as a reliable predictor of mortality in severe sepsis. 2011 *Critical Care* 2011, 15:R220.