

**РОЛЯТА НА НЕУТРОФИЛНИЯ ПОВЪРХНОСТЕН АНТИГЕН CD64 КАТО
БИОМАРКЕР ПРИ УСЛОЖНЕНИ ИНТРААБДОМИНАЛНИ ИНФЕКЦИИ**

Евгени Димитров, Емил Енчев, Георги Минков, Стоян Николов, Йовчо Йовчев
*Клиника по хирургични болести, УМБАЛ „Проф. д-р Стоян Киркович”, Стара Загора,
България*

*Кореспонденция: Д-р Евгени Димитров – Клиника по хирургични болести, УМБАЛ
„Проф. д-р Стоян Киркович” Стара Загора, България, ул. Ген. Столетов №2; e-mail:
evgeni_d1984@yahoo.com тел: +359887609943*

РЕЗЮМЕ:

Усложнените интраабдоминални инфекции (уИаИ) са сериозна причина за морбидност и често се свързват с лоша прогноза, особено при високорискови пациенти. Оценката на уИаИ в ранен етап е важна за определяне на тежестта и крайния изход. Забавяне в диагностиката и лечението им значително може да влоши прогнозата. Неутрофилният CD64(нCD64) от няколко години е обект на изследване като биомаркер за инфекция и сепсис. Той притежава няколко характеристики, които го правят подходящ за клинично приложение. Експресията му се увеличава часове след активацията на вродения имунитет, поради което може да отрази ранните етапи на инфекцията и да помогне за ранната диагноза и прогноза. В нашия обзор стигаме до заключение, че нCD64 може да бъде обещаващ и значим биомаркер при пациенти с усложнени интраабдоминални инфекции. Този маркер показва добър потенциал за оценка тежестта на заболяването и може да даде информация за крайния изход. Въпреки това, има нужда от извършване на по-мощни проучвания, преди приложението му в клиничната практика.

***Ключови думи:** биомаркери, CD64, усложнени интра-абдоминални инфекции, сепсис*

Въведение

Усложнените интраабдоминални инфекции (уИаИ) се свързват със смъртност около 25% (1). В началото на 21 век те остават отговорни за 20% от сепсиса в интензивните отделения. Така те представляват втората най-честа причина за инфекциозна морбидност и смъртност след пневмонията (2,3).

Според разпространението си интраабдоминалните инфекции (ИаИ) се разделят на неусложнени и усложнени. Неусложнените причиняват интрамурално възпаление на даден орган, без да нарушават анатомично стомашно-чревния тракт (4,5). Усложнените ИаИ се разпространяват извън увредения орган към перитонеалната кухина. Те предизвикват перитонеално възпаление, водещо до локален или дифузен перитонит (6). Усложнените интра-абдоминални инфекции обикновено се придружават от сепсис,

който може да еволюира в септичен шок, и в крайна сметка до полиорганна недостатъчност и смърт.

Сепсисът е животозаstrашаваща органна дисфункция, дължаща се на дисрегулиран отговор на гостоприемника към инфекцията (7). Органната дисфункция се определя с покачване на 2 или повече точки от SOFA скоростта с-ма. Нарастването с 2 точки от SOFA при пациенти с инфекции дава обща смъртност от 10%.

Септичният шок е подвид на сепсиса, при който основните циркулаторни и клетъчни / метаболитни нарушения са достатъчно сериозни, за да допринесат за значително повишение на смъртността. Клиничните критерии за септичен шок са сепсис (въпреки адекватен обем реанимация) и наличие на :

- Персистираща хипотония, изискваща вазопресори за поддържане на САН по-високо или равно на 65 mm Hg

- Лактат по-висок или равен на 2 mmol/L

С тези критерии, болничната смъртност превишава 40%

Терминът „усложнени интраабдоминални инфекции” описва широко хетерогенни групи от пациенти, затруднявайки предлагането на общ тип на лечение като подчертава нуждата от индивидуален подход при вземането на решения. Ранната прогностична оценка на уИаИ е от решаващо значение за преценка на тежестта ѝ, както и за терапевтичната агресивност. Описани са множество фактори, влияещи върху прогнозата при пациенти с уИаИ, а именно напреднала възраст, неправилно хранене, предшестващи заболявания, имуносупресия, продължителен перитонит, наличие на септичен шок, лош контрол върху източника на инфекция, органни увреждания, продължително болнично лечение преди терапията, и нозокомиални инфекции (8). Сепсисът остава важна и водеща причина за болестност и смъртност при уИаИ. (9). Закъснения в диагностиката и лечението му често водят до бързо развитие на циркулаторен колапс, полиорганна недостатъчност, и в крайна сметка до смърт (10). Следователно ранната диагностика и навременното лечение могат да подобрят крайния изход при такива пациенти. В момента има сериозна нужда от точни методи, които да диагностицират сепсиса в ранен етап, да помогнат за ранната прогностична оценка и да определят агресивността на консервативното и хирургично лечение. Големи надежди за справяне с тези проблеми са насочени към групата на биомаркерите.

Неутрофилен CD64

Антигенната експресия на CD64 върху неутрофилите като биомаркер за инфекция и за сепсис е обект на проучване от няколко години. CD64 има няколко характеристики, които го правят подходящ за клинично приложение: експресията му върху неактивни неутрофили е ниска, а след активация значително се повишава в рамките на няколко часа. След като стимулът за активиране изчезне, експресията се връща на базовото си ниво за няколко дни. Освен това, за изследването на hCD64 се изисква малък обем проба като анализа не е сложен (11).

Левкоцитният повърхностен антиген CD64 представлява високо афинитетен Fc рецептор (FcγRI), който се свързва с IgG мономер. Fc рецепторите са свързани с вродения и придобития имунитет, стимулирайки както фагоцитоза, така и антитяло-медираната цитотоксичност (12). Неутрофилната CD64 експресия бързо се увеличава в присъствието на компоненти на микробната стена, елементи от системата на комплемента, както и някои проинфламаторни цитокини, като интерферон-гама (IFN-γ) и гранулоцитен колони-стимулиращ фактор (G-CSF) (13). CD64 се експресира върху неутрофили и е нисък при липса на инфекция, но когато се активира от проинфламаторни цитокини нивата много бързо се повишават до 10 пъти (11). Повишената експресия на CD64 върху клетъчната повърхност на неутрофилите се счита за ранен етап на вродения имуноен отговор към бактериална инфекция (14,15). Тя се увеличава часове след активирането на вродения имунитет, поради което може да отрази най-ранните етапи на инфекцията и да помогне за ранната диагноза и прогноза. CD64 индексът е предложен да бъде предиктивен за положителни бактериални култури, както и да бъде полезен при поведението при сепсис и други значими бактериални инфекции (16). Най-често използваният метод за определяне на hCD64 е флоуцитометрията.

Диагностична стойност

Първи Davis и кол. (14) в проспективен анализ на 100 кръвни проби от пациенти в спешно отделение заключили, че нивото на неутрофилна CD64 експресия осигурява подобрена диагностика на инфекция/сепсис с чувствителност от 87,9% и специфичност от 71,2% в сравнение със стандартните диагностични тестове, използвани досега в медицинската практика. През 2012 Gros и др. (17) в изследване, включващо 293 пациенти намират, че CD64 индекс по-голям от 2.2 прогнозира бактериална инфекция с чувствителност и специфичност съответно 63% и 89%. Авторите дават заключението, че

CD64 индексът е специфичен за бактериална инфекция при пациенти в интензивно отделение, но поради получената слаба чувствителност не може да бъде препоръчан в практиката, а да се използва в комбинация с по-чувствителни биологични маркери. Gibot и сътр. (18) в проучване с 300 пациенти показва, че серумните концентрации на hCD64 индекс са по-високи при пациенти със сепсис в сравнение с всички други, като праговата стойност е 1,62. Бразилско проучване от 2014 (19) включващо 93 пациенти показва, че високата експресията на CD64 е важен маркер за диагностициране на инфекция и сепсис. През 2014 Righi и сътр. (20) оценят последователно 93 пациенти със симптоми на инфекция, като изследват CD64, С-реактивен протеин, и броя на левкоцитите. Нивата на CRP и CD64 показват значителна разлика при септични и асептични пациенти. Заключение на авторите е, че hCD64 представлява чувствителен и специфичен маркер за ранна диагностика на системни инфекции при възрастни пациенти, приети в интензивно отделение, превъзхождащ традиционните хематологични параметри, както и CRP. Проспективно проучване от 2014 на Dimoula и сътр. (21) с 468 пациенти показва, че при приема в болница септичните пациенти са имали по-висока hCD64 експресия, отколкото асептичните ($P < 0.001$). Прагова стойност на hCD64 експресия при приема от 230 MFI идентифицира сепсис с чувствителност от 89% и специфичност от 87%. Авторите заключват, че измерването на hCD64 експресията в интензивни отделения при приема, особено когато се комбинира с концентрации на CRP, е полезен тест за диагностициране на сепсис.

Мета-анализ от 2013 с общо 26 проучвания и 3944 пациенти показва, че неутрофилната CD64 експресия може да бъде перспективен и значим биомаркер за диагностициране на бактериална инфекция с чувствителност от 76% и специфичност от 85%. Въпреки това, поради различните прагови стойности на CD64 трябва да бъдат извършени по-големи проспективни проучвания преди внедряване му в клиничната практика(13).

Мета-анализ от 2015 включващ 8 проучвания с 1986 пациенти показва, че неутрофилната CD64 експресия е полезен маркер за ранна диагностика на сепсис при критично болни пациенти с чувствителност и специфичност 76% и 85%, съответно. Резултатите не трябва да се използват самостоятелно за диагностицирането на сепсис, а да се тълкуват в комбинация с други показатели. Авторите не могат да определят

идеалната прагова стойност за nCD64 поради различните методи на изследване и липсата на достатъчно данни (22).

Оценка на тежестта на заболяването

Експресията на CD64 е полезна не само за диагностиката на сепсис, но няколко автори съобщават за приложението ѝ като маркер, оценящ тежестта на сепсиса: пациенти със септичен шок обикновено имат по-високи стойности на CD64 от тези със сепсис (11). Livaditi и сътр. (23) изучават няколко биомаркери, които най-добре оценят тежестта на сепсиса (чрез APACHE II) - CD64, IL-8 и IL-6 ($p < 0.01$), и тежестта на органична недостатъчност (чрез SOFA) - CD64 и IL-8 ($p < 0.01$). Те асоциират CD64 експресията със смъртността до 28 ден ($OR = 1.3, p = 0.01$), а анализът на ROC кривата показва висока чувствителност и специфичност за предикция на сепсиса и смъртността до 28 ден. Авторите заключват, че неутрофилната CD64 експресия нараства в ранен етап при сепсис. Въз основа на единичното измерване на този маркер е възможно надеждно да се оцени етапа и тежестта на сепсиса, както и да се прогнозира смъртност до 28 ден. Проспективно проучване на Hsu и сътр. (24) с 66 пациенти показват, че CD64 експресията и съотношението CD64 / CD16 се увеличава значително в зависимост от тежестта на сепсиса. CD64, отношението CD64/CD16, както и прокалцитонинът имат значителна предиктивна способност за сепсис, септичен шок и бактериемия. CD64 се асоциира със смъртността и е по-добър от прокалцитонина в идентифицирането на пациенти, които изискват лечение с антибиотици. Icardi и кол. (16) откриват в 109 пациенти за 2-месечен период, че CD64 индекс < 1.19 прогнозира липса на растеж в кръвни култури. Индекс > 1.19 е предиктивен за клинична и/или микробиологична диагноза на инфекция с чувствителност и специфичност съответно 94.6% и 88.7%, положителна и отрицателна прогностична стойност, съответно 89.8% и 94%. CD64 индекс представлява полезен и не-скъп тест за подобряване диагностиката и лечението на хоспитализирани пациенти с бактериална инфекция. Лесно може да се извършва в клинична лаборатория и да доведе до значителни икономии за здравното заведение.

Прогностична стойност

Според някои автори nCD64 има и прогностично значение. Към момента наличните данни са противоречиви. Има публикации, които демонстрират, че преживяемостта може да се прогнозира от ниска експресия на CD64 (14). Fischer и кол. (25) показват, че при пациенти със септичен шок експресията на CD64 е по-висока от

такива без сепсис. Qiqi Chen и кол. (26) в проучване със 797 пациенти от интензивно отделение установяват, че CD64 има по-добра прогностична възможност за оценка на смъртността в интензивно отделение спрямо скорвата с-ма APACHE II и спрямо C-реактивния протеин. Комбинацията между CD64 и APACHE II, значително подобрява прогностичната точност относно крайния изход.

Други автори смятат, че високите нива на hCD64 могат да бъдат маркер за благоприятна прогноза. Най-вероятно малкият брой на изследвани групи пациенти е причина за противоречивите резултати. Danikas и кол. (27) показват в проучването си, че увеличената експресия на CD64 върху неутрофилите и моноцитите корелира с благоприятен краен изход. Sid и кол. (28) изследват проспективно 132 пациенти с фебрилитет $>38^{\circ}\text{C}$ от спешно отделение до пълното им излекуване или до смъртта. Те установяват, че оцелелите пациенти имат по-висок CD64 индекс от починалите

Заклучение

Поради сложността на септичното състояние и патофизиологичните механизми при сепсис едва ли в близко бъдеще ще бъде открит идеален биомаркер. Въпреки това, ние смятаме, че hCD64 може да бъде обещаващ и значим биомаркер при пациенти с усложнени интраабдоминални инфекции, поради демонстрираните добри чувствителност и специфичност като диагностичен маркер за сепсис. hCD64 показва потенциал за определяне тежестта на заболяването, но данните за прогностичната му стойност са противоречиви. Разбира се, за приложението му в клиничната практика са необходими по-мощни проучвания с повече хирургично пациенти в бъдеще.

Литература

1. 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
2. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, et al. adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30(4):589-96. ;
3. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama* 2009; 302(21):2323-9.
4. Merlino JJ, Yowler CJ, Malangoni MA: Nosocomial infections adversely affect the outcomes of patients with serious intraabdominal infections. *Surg Infect (Larchmt)* 2004, 5(1):21-27.
5. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, Goldstein EJ, Baron EJ, O'Neill PJ, Chow AW, Dellinger EP, Eachempati SR, Gorbach S, Hilfiker M, May AK, Nathens AB, Sawyer RG, Bartlett JG: Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection

in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Surg Infect (Larchmt)*

6. Lopez et al. A Comprehensive review of abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery* 6(1):7 2011 s DOI: 10.1186/1749-7922-6-7.
7. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287;
8. Sartelli et al. Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study)*World Journal of Emergency Surgery* (2015) 10:61
9. 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;52:761–64
10. Warren HS. Strategies for the treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 1997;336:952–3
11. Johannes J.M.L. Hoffmann. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochemia Medica* 2011;21(3):282-90.<http://dx.doi.org/10.11613/BM.2011.038>
12. 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.
13. 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
14. 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.
15. Gerrits JH, McLaughlin PMJ, Nienhuis BN, Smit JW, Loef B. Polymorphic mononuclear neutrophils CD64 index for diagnosis of sepsis in postoperative surgical patients and critically ill patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(4):897–905.
16. 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
17. 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.
18. Gibot S, Bene MC, Noel R, Massin F, Guy J, Cravoisy A et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient 2012 Jul *Am J Respir Crit Care Med* 1;186 (1):65-71. doi: 10.1164/rccm.201201-0037OC. Epub 2012 Apr 26
19. 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

20. Righi S, Santambrogio L, Monsagrati A, Saliu M, Locati L, Radrizzani D. Clinical evaluation of neutrophil CD64 as a diagnostic marker of infection in a polyvalent intensive care unit; *Infect Dis Clin Pract*. 2014;22:32–7
21. Dimoula A., Olivier Pradier, Zaina Kassenger, Dyanne Dalcomune, Hulya Turkan, and Jean-Louis Vincent. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients 2014 *Clin Infect Dis*.
22. Wang et al. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Critical Care* (2015) 19:245
23. 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.
24. 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
25. 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.
26. 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
27. 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
28. 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