

© Федоров В.Ю.

УДК: 615.55-036.11-037:616.94

Федоров В.Ю.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра хірургії та ендоскопії ФПДО (вул. Пекарська, 69, м. Львів, Україна, 79010)

СПОСІБ РАНЬОГО ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ СЕПСИСУ В ХВОРИХ НА ГОСТРИ ЗАХВОРЮВАННЯ ОРГАНІВ ЧЕРЕВНОЇ ПОПРОЖНИНИ

Резюме. Абдомінальний сепсис (АС) займає перше місце в структурі причин смерті хворих у відділеннях інтенсивної терапії та хірургії. Отже одним із пріоритетних напрямків досліджень є пошук інформативних біомаркерів, які б дозволили прогнозувати розвиток сепсису та тяжкого сепсису в хворих з гострими захворюваннями органів черевної порожнини (ГЗОЧП). Науковим дослідженням охоплено 107 пацієнтів - 42 випадки ГЗОЧП, що ускладнені АС та 65 - ГЗОЧП без АС. Було виокремлено 7 факторів у сироватці крові та перитонеальній рідині, які при поєднаній дії мають вірогідний вплив на розвиток АС. Розроблено формулу на основі імунологічних показників, завдяки якій ймовірність діагностики АС сягає 90,6 %, а тяжкого сепсису - 98,8 %.

Ключові слова: гострі захворювання органів черевної порожнини, абдомінальний сепсис, прогнозування.

Вступ

Хірургічний сепсис визнано найбільш тяжким варіантом розвитку хірургічної інфекції [4, 7, 9]. Одним з найпоширеніших різновидів хірургічного сепсису вважають абдомінальний сепсис, частка якого у загальній його структурі становить 30,1-39,6 % [3]. Також, АС займає перше місце в структурі причин смерті хворих у відділеннях інтенсивної терапії та хірургії. Отже, одним із пріоритетних напрямків досліджень є пошук інформативних біомаркерів, які б дозволили прогнозувати розвиток сепсису та тяжкого сепсису в хворих з гострими захворюваннями органів черевної порожнини. Для встановлення ступенів тяжкості перебігу АС широко застосовують бальні системи оцінки фізіологічного стану пацієнта [8]. Серед використовуваних систем особливе місце займають APACHE I-III, SAPS, SOFA, MODS та MIP [3, 5]. Ці системи дозволяють більшою

мірою оцінити ефективність проведеного лікування, але не є способами прогнозування АС [2]. Визначення у пацієнтів із АС числа лейкоцитів у периферійній крові, швидкості осідання еритроцитів, вмісту ПКТ, С-реактивного протеїну (СРП) та лактату здебільшого свідчать про наявність інфекційного процесу [10]. Отже, в жодній із запропонованих систем прогнозування не враховано імунологічні показники крові та перитонеальної рідини, що дали б змогу не лише точної верифікації інфекційного процесу, але і вірогідного індивідуального прогнозування ризиків розвитку АС та його тяжкості у кожному конкретному випадку.

Мета - підвищення точності верифікації, прогнозування розвитку та оцінки ступеня тяжкості АС у пацієнтів з ГЗОЧП.

Матеріали та методи

Науковим дослідженням охоплено 107 пацієнтів з ГЗОЧП, оперованих в хірургічних відділеннях № 2 Львівської обласної клінічної лікарні та хірургічних відділеннях №1 і №3 комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги міста Львова. Загально-клінічними (аналіз скарг та анамнезу захворювання, об'єктивне обстеження), лабораторними (загальний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові), інструментальними (відеолапароскопія та променевими-УЗД, рентгенографія живота, КТ) методами було діагностовано 42 випадки ГЗОЧП, що ускладнені АС, та 65 - ГЗОЧП без АС. Матеріалом для імунологічних та молекулярно-генетичних методів слугувала венозна кров та перитонеальна рідина пацієнтів. Кров забирала з периферійної вени в першу добу госпіталізації до операції перед застосуванням антибіотикотерапії при гострому деструктивному апендициті та гострому деструктивному холециститі, а при гострому деструктивному панкреатиті - одразу після першого епізоду гарячки, також перед застосуванням антибіотикотерапії. Перитонеальну рідину - під час операції, одразу після лапаротомії та за допомогою одноразового стерильного аспілятора - при лапароскопії. Фагоцитарну здатність та "оксидантний вибух" гранулоцитів і моноцитів у периферійній крові визначали цитофлюорометричним методом на проточному цитометрі FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) з використанням відповідних реактивів "Фаго-тест" та "Бустер-тест" (Becton Dickinson, USA). Кількість регуляторних Т-лімфоцитів оцінювали цитофлюорометричним методом за допомогою проточного цитометра FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) та моноклональних антитіл CD3/CD4/CD 25/CD127 (Becton Dickinson, USA). Визначення рівня прокальцитоніну, гемопексину та IL-5 в сироватці крові та перитонеальній рідині здійснювали імуноферментним методом з використанням імуноферментного аналізатора Sunrise (Austria). Визначення експресії microRNA146a та microRNA150 в сироватці та перитонеальній рідині проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції на апараті "7500 Fastreal-time PCR" реактивами "TaqMan MicroRNA Assays" (Applied biosystems, USA). Для побудови прогностичної моделі вірогідності розвитку АС та тяжкого АС нами застосовано метод логістичної регресії. Розрахунки проведено в програмі "SPSS 19".

Результати. Обговорення

У процесі опрацювання отриманого матеріалу нами було виокремлено 33 чинники, які могли б впливати на появу АС та тяжкого АС. Використавши метод логістичної регресії з поступовим включенням достовірних ознак, нами було виокремлено 7 факторів, які при поєднаній дії мають вірогідний вплив на розвиток АС. Значення коефіцієнтів регресії даних факторів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Результати коефіцієнтів регресії щодо виникнення ГЗОЧП+АС.

№ з/п	Фактори	Умове позначення	Коефіцієнти регресії (βi)
1.	Прокальцитонін (сироватка крові), нг/мл	A	1,963
2.	Гемопексин(перитонеальна рідина), г/л	B	0,070
3.	MicroRNA146a(перитонеальна рідина), U/6	C	-0,302
4.	Сума показників ССЗВ	D	1,929
5.	ЛІІ, ум.од	E	0,697
6.	ОВН с (сироватка крові), Г/л	F	1,131
7.	ОВН E.coli (сироватка крові), %	G	-0,308
	Константа		-14,515

Достовірність обчислених коефіцієнтів перевірено за допомогою методу Вальда, а цілої моделі - за допомогою ксі-квадрату, значення якого становить 81,406 і свідчить про те, що вона є достовірною з вірогідністю помилки менше 0,1% (p<0,001). Підставивши у формулу результати, отримані за методом логістичної регресії, нами було отримано значення Z для визначення вірогідності розвитку АС:

$$Z = 1,963 \cdot A + 0,070 \cdot B - 0,302 \cdot C + 1,929 \cdot D + 0,697 \cdot E + 1,131 \cdot F - 0,308 \cdot G - 14,515$$

де: A - прокальцитонін (ПКТ) в сироватці крові, B - гемопексин в перитонеальній рідині, C - MicroRNA146a в перитонеальній рідині, D - сума показників синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), E - лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), F - спонтанний оксидантний вибух нейтрофілів (ОВНс) у абсолютних числах сироватці крові, G - стимульований E.coli оксидантний вибух нейтрофілів у відносних значеннях (ОВН E.coli) в сироватці крові.

Таким чином, можна ствердити, що значення MicroRNA146a в перитонеальній рідині та ОВН E.coli є превентивними факторами, щодо появи АС. Тоді як інші 5 ознак - прокальцитонін, гемопексин, сума показників ССЗВ, ЛІІ, ОВНс є провокуючими чинниками. Відповідно до значення Z, розрахованого за формулою, існує змога розрахувати індивідуальний ризик розвитку АС у кожного конкретного пацієнта. *Приклад:* у пацієнта наступні показники - рівень ПКТ в сироватці крові - 0,043 нг/мл, гемопексину в перитонеальній рідині - 2,57 г/л, MicroRNA146a в перитонеальній рідині - 1,62 U/6, ЛІІ - 4,13 ум/Од, спонтанного ОВН у сироватці крові - 10,86 Г/л, стимульованого ОВН E.coli в сироватці крові - 10,80 %. Підставивши наведені значення у формулу, отримуємо значення Z. Для цього пацієнта $Z = 0,43$. Індивідуальний ризик розвитку АС обчислюємо за формулою - $(1/1+e^{-0,43}) \times 100\% = 70,35\%$. Отже ризик розвитку АС у пацієнта з ГЗОЧП становить 70,4 %. У подальшому нами була проведена ретроспективна перевірка отриманої моделі на основі даних нашого дослідження. Результати засвідчують, що

Таблиця 2. Результати коефіцієнтів регресії щодо виникнення тяжкого АС за методом логістичної регресії.

№ з/п	Фактори	Умовне позначення	Коефіцієнти регресії (βi)
1.	Прокальцитонін (сироватка крові), нг/мл	A	12,129
2.	MicroRNA146a (перитонеальна рідина), U/6	B	-1,347
3.	MicroRNA 155(сироватка крові), U/6	C	30,922
4.	Сума показників ССЗВ	D	1,036
5.	OBM E.coli, (периферійна кров), %	E	20,333
6.	CD4+ / CD 25+ /CD 127-, (периферійна кров), %	F	88,830
7.	Лімфоцити, (периферійна кров), %	G	-0,116
	Константа		-113,050

точність регресійного рівняння щодо прогнозування розвитку АС на фоні ГЗОЧП становить 90,6 %.

Аналогічно, за допомогою методу логістичної регресії, нами було виокремлено також 7 факторів, які при поєднаній дії мають вірогідний вплив на розвиток тяжкого сепсису. Значення коефіцієнтів регресії для даних факторів наведено в таблиці 2.

Підставивши у формулу результати, отримані за методом логістичної регресії, нами було отримано значення Z для визначення вірогідності розвитку тяжкого сепсису:

$$Z = 12,129 \cdot A - 1,347 \cdot B + 30,922 \cdot C + 1,036 \cdot D + 20,333 \cdot E + 88,830 \cdot F - 0,116 \cdot G - 113,050$$

де: A - ПКТ в сироватці крові, B - MicroRNA146a в перитонеальній рідині, C - MicroRNA 155 в сироватці крові, D - сума показників ССЗВ, E - стимульований оксидантний вибух моноцитів у відносних значеннях в сироватці крові (OBM E.coli), F - CD4+25+127 регуляторні лімфоцити у відносних значеннях в сироватці крові, G - лімфоцити у відносних значеннях в сироватці крові.

Відповідно до значення Z, розрахованого за формулою, існує змога прогнозувати індивідуальний ризик виникнення тяжкого сепсису в кожного конкретного пацієнта. Приклад: у пацієнта наступні показники: рівень ПКТ в сироватці

крові - 4,649 нг/мл, MicroRNA146a у перитонеальній рідині - 2,19U/6, MicroRNA155 в сироватці крові - 0,28U/6, сума показників ССЗВ - 2, стимульований OBM E.coli в сироватці крові - 2,53 %, CD4+CD 25+CD 127 - в сироватці крові - 0,01 %, лімфоцити - 14,0 %. У цього хворого Z= 2,28. Індивідуальний ризик розвитку тяжкого сепсису - 90,7 %. Відтак, превентивними чинниками щодо розвитку тяжкого сепсису є MicroRNA146a та кількість лімфоцитів у сироватці крові. Всі інші ознаки - прововуючі. Також, була проведена ретроспективна перевірка отриманої моделі на основі даних нашого дослідження. Отримані результати засвідчують, що точність регресійного рівняння щодо прогнозування тяжкого сепсису становить 98,8 %.

Результатом проведених обрахунків з метою втілення їх у щоденну клінічну практику та визначення індивідуального ризику виникнення АС, нами було розроблено електронну програму, яка дає змогу автоматично розрахувати ризик появи АС чи розвитку тяжкого АС на фоні ГЗОЧП у конкретного хворого та зберегти цю інформацію для подальшого аналізу та порівняння (рис. 1).

Традиційним та широко дослідженим гуморальним біомаркером сепсису є СРП. Проте, його реакція не є специфічною тільки для бактеріальної інфекції [1]. Результати багатьох досліджень дають підстави вважати, що предиктором розвитку АС може бути ПКТ у плазмі крові, оскільки його рівень тісно пов'язаний з тяжкістю бактеріальної інфекції [9, 11]. Численні дослідження були присвячені доказовості ПКТ та його порівнянню з СРП у діагностиці АС [10]. Ряд клініцистів при проведенні метааналізу повідомили, що чутливість ПКТ була кращою, ніж СРП (72 % проти 55 %, p<0,05) [9, 11]. У нашій формулі ПКТ також показав достовір-

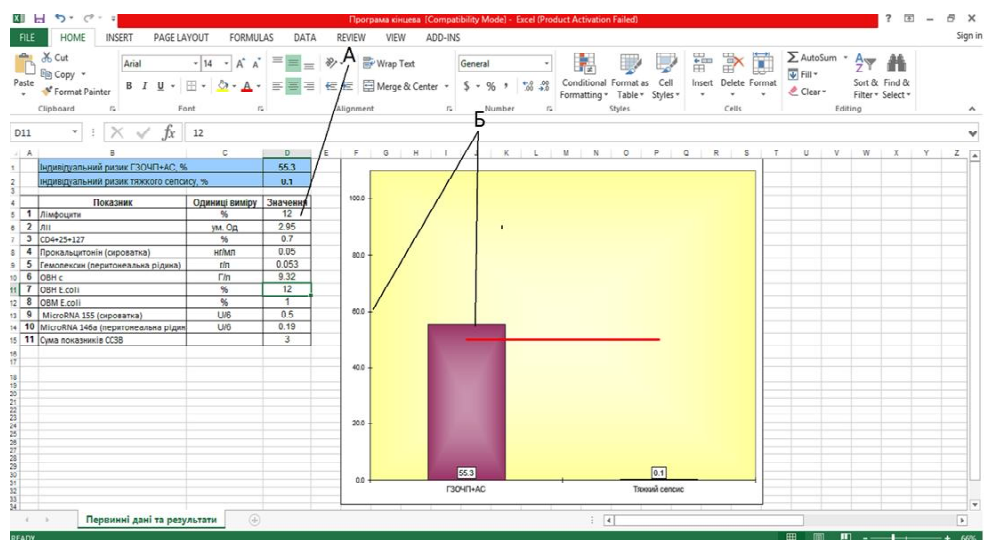


Рис. 1. Електронна програма, яка дає змогу автоматично розрахувати ризик розвитку АС чи тяжкого сепсису на фоні ГЗОЧП у конкретного пацієнта. "А" - поле для внесення показників сироватки крові і перитонеальної рідини. "Б" - графічно і відсотково представлені ризики розвитку АС.

ний кореляційний зв'язок. Проте, як свідчать дані в спеціалізованій літературі, рівні ПКТ і СРП можуть бути підвищені і за відсутності інфекції, а їх концентрація може змінюватися в гострій імунотопальній стадії розвитку сепсису. Їх інформативність є ймовірно значущою лише у пізній імуносупресивній стадії сепсису. Саме тому, врахування лише цих показників для вірогідної діагностики сепсису та оцінки його тяжкості є недостатнім [6]. Також, згідно повідомлення міжнародної компанії "Пережити сепсис", для прогнозування розвитку АС необхідно використовувати лише мультибіомаркерні системи, оскільки вони володіють високою специфічністю та чутливістю [7]. У нашій формулі використано сім показників, що дозволило з великою вірогідністю прогнозувати сепсис на ранніх етапах його розвитку. Також, ряд авторів повідомили про систему "Bioscore", яку складають три біомаркери - ПКТ, нейтрофільний рецептор CD64 і тригерний рецептор мієлоїдних клітин (sTREM-1), проте їх інформативність проявляється лише після 12 год. і дозволяє діагностувати розвиток тяжкого сепсису та септичного шоку. Активно досліджуються і інші біомаркери: лактат, ліпопротеїди низької щільності, АЛТ, АСТ, IL-1R α , TNF- α , IL-

6, IL-1 β , IL-8, D-димер, HMGB1, MMP-9, VEGF, ICAM-1, MPO, CASPASA 3, 9.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Для прогнозування абдомінального сепсису доцільно застосувати комплекс показників: прокальцитонін, гемопексин, MicroRNA 146a, суму показників синдрому системної запальної відповіді, лейкоцитарний індекс інтоксикації, спонтанний оксидантний вибух нейтрофілів, стимульований E.coli оксидантний вибух нейтрофілів.

2. Для прогнозування тяжкого абдомінального сепсису доцільно використовувати комплекс наступних показників: прокальцитонін, MicroRNA 146a, MicroRNA 155, сума показників синдрому системної запальної відповіді, стимульований оксидантний вибух моноцитів, CD4+25+127 регуляторні лімфоцити, лімфоцити у відносних значеннях периферійної крові.

Розроблена електронна програма є ефективним способом автоматичного розрахунку ризику розвитку АС та тяжкого сепсису на фоні ГЗОЧП. Планується подальше дослідження ефективності методики.

Список літератури

1. Деев В. А. С-реактивний білок і прокальцитонін у хворих на гострий некротичний панкреатит / В. А. Деев // Лабораторна діагностика. - 2007. - № 3. - С. 41.
2. Сидорчук Р. І. Абдомінальний сепсис / Сидорчук Р. І. - Чернівці: Вид-во БДМУ. - 2006. - 462 с.
3. Фомін П. Д. Абдомінальний сепсис (огляд літератури) / П.Д Фомін, Р.І. Сидорчук // Сучасні медичні технології. - 2009. - № 4. - С. 60-67.
4. Balk R. A. Severe sepsis and septic shock: definition, epidemiology and clinical manifestation // R.A. Balk // Crit. Care Clin. - 2000. - № 2. - P. 1-8.
5. Baue A. E. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS), multiple organ dysfunction syndrome (MODS), multiple organ failure (MOF): are we winning the battle? // A.E. Baue, R. Durham, E. Faist // Shock. - 1998. - Vol. 10, № 2. - P. 79-89.
6. Becker Kenneth L. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations/ L. Becker Kenneth., R. Snider, E. S. Nylen // Critical care medicine. - 2008. - № 36. - P. 941-952.
7. Dellinger R. P. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock / R. P. Dellinger // Intensive Care Med. - 2012. - Vol. 39 (2). - P. 165-228.
8. Mazuski J. E. Intra-abdominal infections / J.E. Mazuski, J.S. Solomkin // Surg. Clin. North Am. - 2009. - Vol. 89 (2). - P. 421-437.
9. Meisner M. Guide for the Clinical Use of Procalcitonin (PCT). Diagnosis and Monitoring of Sepsis / M. Meisner, J. Pugin, A. Leon // Bremen: UNIMED10st edition. - 2011. - Vol. 3.
10. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis / L. Simon, F. Gauvin, D.K. Amre [et al.] // Clin. Infect. Dis. - 2004. - P. 39.
11. The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis / Z. Yu, J. Liu, Q. Sun [et al.] // Scand. J. Infect. - 2010. - № 42. - P. 723-33.

Фёдоров В.Ю.

СПОСОБ РАННЕГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ СЕПСИСА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Резюме. Абдоминальный сепсис (АС) занимает первое место в структуре причин смерти больных в отделениях интенсивной терапии и хирургии. Итак, одним из приоритетных направлений исследований является поиск информативных биомаркеров, позволяющих прогнозировать развитие сепсиса и тяжелого сепсиса у больных с острыми заболеваниями органов брюшной полости (ОЗОБП). Научным исследованиям охвачено 107 пациентов - 42 случая ОЗОБП, осложненных АС, и 65 - ОЗОБП без АС. Было выделено 7 факторов в сыворотке крови и перитонеальной жидкости, которые при сочетанном действии оказывают влияние на развитие АС. Разработано формулу на основе иммунологических показателей, благодаря которой вероятность диагностики АС достигает 90,6 %, а тяжелого сепсиса - 98,8 %.

Ключевые слова: острые заболевания органов брюшной полости, абдоминальный сепсис, прогнозирование.

Fedorov V.

EARLY PREDICTION OF SEPSIS IN PATIENTS WITH ACUTE DISEASES OF THE ABDOMINAL CAVITY

Summary. Abdominal sepsis (AS) take the first place in the structure of death in intensive care unit and in surgery department. So, one of the priority areas of research is the search for informative biomarkers that would predict the development of sepsis and severe sepsis in patients with acute diseases of the abdominal cavity (ADAC). Our scientific research covered 107 patients - 42 cases ADAC that complicated sepsis, and 65 - ADAC without AS. It was singled out seven factors in serum and peritoneal fluid, which in combination impact on the development of AS. We made formula based on immunological parameters by which the prediction of

diagnosis of AS reaches 90,6 %, and severe sepsis - 98,8 %.

Key words: *acute diseases of the abdominal cavity, abdominal sepsis, prediction.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Чоп'як В.В.

Стаття надійшла до редакції 30.11.2015 р.

Федоров Володимир Юрійович - аспірант кафедри хірургії №1 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, лікар-хірург хірургічного відділення №2 Львівської обласної клінічної лікарні; +38 093 326-90-85; surgeon.fedorov@gmail.com
