Biokemialliset merkkiaineet vaikeassa sepsiksessä – Finnsepsis-tutkimuksen tuloksia

Sari Karlsson

Yleistyneen tulehdusvasteen (SIRS) takana on useimmiten mikrobilääkitystä vaativa infektio, mutta myös postoperatiiviset tilat, traumat, vaskuliitit jne. voivat laukaista sepsistä muistuttavan tilan. Kliinisen päätöksenteon tukena SIRS:n laukaisijan erotusdiagnostiikassa käytetään erilaisia biomarkkereita, kuten C-reaktiivista proteiinia (CRP) ja prokalsitoniinia (PCT), joista kummallakaan ei ole selvää ennusteellista arvoa kriittisesti sairaalla potilaalla. Finnsepsis-tutkimuksessa selvitettiin uusien biokemiallisten markkereiden ennustearvoa vaikeassa sepsiksessä.

Ideaalisen biokemiallisen merkkiaineen tulisi olla stabiili, omata sopiva induktion ja eliminaation puoliintumisaika sekä erotella bakteeri-infektio muusta systeemisestä tulehdusvasteesta. Biomerkkiaineen tulisi kertoa systeemisen vasteen voimakkuudesta ja korreloida sekä sairauden vaikeusasteeseen että terapeuttiseen vasteeseen. Lopuksi sen pitäisi vielä korreloida potilaan ennusteeseen. Yhdelläkään kliinisessä tai tutkimuskäytössä olevalla biomerkkiaineella ei tietenkään ole kaikkia näitä ominaisuuksia, mutta kliiniseen käyttöön soveltuvia uusia markkereita testataan jatkuvasti.

Finnsepsis-tutkimuksessa olleista 470:stä vaikeaa sepsistä sairastavista potilaista yli puolelta (n = 250, 53 %) määritettiin tutkimusluvan saamisen jälkeen verinäytteistä kolmea erilaista uutta biokemiallista merkkiainetta. Tutkimuksessa käytettiin vaikean sepsiksen määritelmänä ACCP/SCCM:n suositusta vuodelta 1992 (taulukko 1) [1]. Potilaiden keski-ikä oli 59 v. (SD 15,2), APACHE-pisteiden keskiarvo 23 (SD 9) ja tehokuolleisuus 13 % ja sairaalakuolleisuus 26 %. Nämä potilaat eivät eronneet sairautensa vaikeusasteen, iän tai sukupuolen mukaan muista Finnsepsis-potilaista. Finnsepsis-tutkimuksen tutkimusasetelma ja tulokset on julkaistu muualla [2].

Seuraavassa käsitellään ensin lyhyesti rutiinikäytössä olevia vanhoja biomarkkereita ja sen jälkeen esitellään Finnsepsiksessä saatuja tutkimustuloksia. NT-proBNP:n osalta tutkimus on hyväksytty julkaistaviksi, VEGF:n ja HMGB1:n osalta tutkimustulokset ovat vielä alustavia ja julkaisemattomia tätä kirjoitettaessa.

Taulukko 1. Vaikean sepsiksen määritelmä

1. Varmistettu tai epäilty infektio

2. SIRS. Yleistyneen tulehdusvasteen (SIRS) kriteerit: vähintään 2 seuraavista infektion aiheuttamina

- Lämpötila > 38 °C tai < 36 °C
- Sydämen syke > 90/min
- Hengitystaajuus > 20/min tai pCO_2 < 4,3 kPa spontaanihengityksellä tai mekaanisen hengityslaitehoidon tarve
- Leukosyyttiarvo > 12 tai < 4 tai 10 % epäkypsiä neutrofiilejä

3. Elinhäiriö

- esim. oliguria, madaltunut tajunta, akuutti hengitysvajaus tai verenkiertovajaus, metaboolinen asidoosi

Vaikea sepsis = 1 + 2 + 3

CRP ja prokalsitoniini – ”vanhat”biomerkkiaineet

C-reaktiivinen proteiini (CRP) on maksassa syntetisoituva akuutin faasin proteiini, jonka eritystä stimuloi etenkin interleukiini-6-sytokiini. Vaikka CRP nousee erityisesti bakteeri-infektioissa, myös muut inflammaation ja systeemisen tulehdusvasteen aiheuttajat saavat aikaan sen erittymisen. CRP on hitaasti reagoiva tulehduksen merkkiaine ja alkaa nousta 4–6 tunnin kuluttua stimulaatiosta. Sen huippupitoisuudet saavutetaan vasta 48–72 tunnin kuluessa. Matala CRP-pitoisuus ei siten sulje pois varhaisessa vaiheessa olevaa sepsistä. Alkuvaiheen pitoisuus ei korreloi myöskään ennusteeseen [3]. CRP on säilyttänyt asemansa laajasti käytössä olevana, nopeasti valmistuvana ja suhteellisen edullisena tulehduksen merkkiaineena.

Prokalsitoniini (PCT) on kalsitoniinihormonin esiaste, jonka on todettu nousevan bakteeri-infektioissa ilman kalsitoniinin määrän muutoksia. Maksa tuottaa prokalsitoniinia TNF:n ja IL-6:n stimuloimana, mutta myös perifeerisen veren monosyytit voivat tuottaa prokalsitoniinia. Mitattavia pitoisuuksia on havaittu jopa neljässä tunnissa endotoksiini-infuusion jälkeen, maksimipitoisuus saavutetaan kahdeksassa tunnissa [4]. Vaikka prokalsitoniinia on tutkittu jo vuodesta 1993, sen asema pelkän systeemisen tulehdusvasteen erottamisessa bakteeri-infektiosta tai ennusteellisena merkkiaineena vaihtelee edelleen yksittäisestä tutkimuksesta ja meta-analyysista toiseen.

Kuopiolainen tutkimus totesi prokalsitoniinin olevan yhtä huono kuin neopteriini erottamaan infektiota inflammaatiosta [5]. Suomalaisen aikuisten vaikean sepsiksen Käypä hoito -suosituksen mukaan PCT:n kyky erottaa SIRS sepsiksestä on näytönasteeltaan vain luokkaa D [6]. Vuonna 2004 julkaistussa meta-analyysissa todettiin, että prokalsitoniini on sensitiivisempi (88 % vs. 75 %) ja spesifisempi (81 % vs. 67 %) kuin CRP erottamaan bakteeritulehduksen aiheuttama inflammaatio muista syistä johtuvasta tulehduksesta [7]. Toisaalta alkuvuonna 2007 julkaistussa meta-analyysissa todettiin puolestaan, ettei prokalsitoniini erota luotettavasti sepsistä muista syistä johtuvasta yleistyneestä tulehdusvasteesta [8]. PCT:n ennusteellinen merkitys on edelleen epäselvä.

Tuoreessa tanskalaisessa tutkimuksessa selvitettiin kohonneen PCT:n merkitystä kuolleisuuteen 472:lla kriittisesti sairaalla potilaalla. Tutkimuksessa koholla olevalla prokalsitoniinilla näytti olevan korrelaatio kuolleisuuteen: relatiivinen kuolemanriski lisääntyi 2,8-kertaiseksi (95 % CI 2,0–3,8), jos PCT oli koholla ≥ 3 päivää. CRP tai valkosolujen määrä eivät ennustaneet kuolleisuutta [9].

NT-proBNP:n ennusteellinen arvo vaikeassa sepsiksessä

Natriureettiset peptidit (B-tyypin natriureettinen peptidi [BNP] sekä N-terminaalinen pro-BNP [NT-proBNP]) ovat sydämen vajaatoiminnan ja akuutin koronaarisyndrooman biomarkkereita. Volyymikuormitus ja kammion seinämän venyttyminen stimuloivat eritystä kammioiden kardiomyosyyteissä nopean geenien ekspression kautta. Muutamissa tutkimuksissa on todettu näiden biomarkkereiden olevan koholla myös vaikeassa sepsiksessä ja septisessä sokissa sekä omaavan ennusteellista arvoa. [10,11]

251 Finnsepsis-tutkimuspotilaalta määritettiin ensimmäisen tutkimusvuorokauden aikana NT-proBNP-pitoisuus ja toinen näyte 215 potilaalta kolmen vuorokauden kuluttua. Määritykset tehtiin kaupallisella immunomäärityksellä automaattistaanalysaattoria käyttäen (Elecsys 2010, Roche Diagnostics). Eloonjääneiden potilaiden NT-proBNP-pitoisuudet olivat ensimmäisenä päivänä matalammat kuin kuolleiden (mediaani 3479 pg/ml, IQR 1102 ja 9970 pg/ml vs. 7908 pg/ml, IQR 2658 ja 20855 pg/ml, $p = 0{,}002$). Ero säilyi myös kolmantena päivänä, NT-proBNP:n mediaanipitoisuudet olivat eloonjääneillä 2354 pg/ml (IQR 631 ja 6362 pg/ml) ja menehtyneillä 5688 pg/ml (IQR 1479 ja 17972 pg/ml, $p = 0{,}002$). Logistisessa regressioanalyysissa kolmannen vuorokauden NT-proBNP-pitoisuus oli itsenäinen teho- ja sairaalakuolleisuuden ennustetekijä. [12]

Vascular endothelial growth factorin (VEGF) ennustearvo vaikeassa sepsiksessä

VEGF on tunnetuin angiogeneesiä, eli verisuonten muodostumista lisäävä tekijä. Angiogeneesiä tapahtuu monissa fysiologisissa ja patologisissa tiloissa kuten haavan paranemisessa, tuumorikasvussa, retinan neovaskularisaatiossa ja kroonisissa tulehduksissa. VEGF on myös voimakas verisuoniston läpäisevyyden lisääjä ja se tunnettiinkin ensin vascular permeability factor (VPF) nimellä [13].

Vaikeassa sepsiksessä kapillaarisuonten läpäisevyys lisääntyy endotoksiinin ja eri sytokiinien aiheuttaman tulehduksen takia. Makrofagit ja lymfosyytit voivat myös stimuloida VEGF:n tuotan-

toa. Joissakin tutkimuksissa VEGF-pitoisuudet ovat olleet koholla vaikean sepsiksen aikana, ja korkeat arvot ovat korreloineet myös mortaliteettiin [14, 15, 16].

Finnsepsis-tutkimuspotilailta määritettiin NT-proBNP:n lisäksi myös seerumin VEGF-pitoisuus ELISA-menetelmällä (Quantikine®, R&D Systems). Kontrolliryhmässä oli kymmenen tervettä vapaaehtoista, joilta myös määritettiin VEGF-pitoisuudet.

Septisten potilaiden VEGF-pitoisuudet eivät ensimmäisen tutkimuspäivän näytteissä eronneet tilastollisesti merkittävästi terveiden kontrollien pitoisuuksista (mediaanipitoisuus 423 pg/ml vs. 243 pg/ml, $p = 0{,}1$). 72 tunnin kuluttua VEGF-pitoisuudet olivat vaikeaa sepsistä sairastavilla merkittävästi nousseet (mediaani 521 pg/ml, $p = 0{,}034$). Vastoin aikaisempia tutkimustuloksia, menehtyneillä Finnsepsis-potilailla oli pienemmät VEGF-pitoisuudet kuin selviytyjillä ($p = 0{,}01$ ja $< 0{,}01$) molemmilla analyysikerroilla. ROC-analyysissä tällä erolla ei kuitenkaan ollut ennusteellista merkitystä. Lisäksi matalia VEGF-pitoisuuksia mitattiin potilailta, joilla todettiin vaikea munuaisten tai hematologinen toimintahäiriö (SOFA-pisteet 3–4). Vaikeassa sepsiksessä VEGF-tuotanto saattaa olla häiriintynyttä ja pitoisuudet odotettua matalampia vaikeimmissa tautimuodoissa. Aikaisemmissa tutkimuksissa potilasmäärät ovat olleet huomattavasti pienempiä kuin omassa Finnsepsis-tutkimuksessamme [17].

HMGB1 ja sen merkitys vaikean sepsiksen biomerkkiaineena

High mobility group box 1 -proteiini (HMGB1) on tumansisäinen proteiini, joka sitoo DNA:ta. HMGB1 on myöhään vaikuttava sytokiini, joka välittää vastetta infektioon ja inflammaatioon eli sillä on myös solun ulkopuolisia vaikutuksia. Sepsiksen aikana HMGB1 vapautuu myöhemmin kuin varhaiset mediaattorit TNF ja IL-1. HMGB1 aktivoi solun ulkopuolisia soluja tuottamaan TNF:a, IL-6:tta ja interferoni-γ:aa. Aktivoituneet makrofagit ja tappajasolut erittävät HMGB1:tä ja sitä vapautuu myös nekroottisista soluista. Viimeaikaisten tutkimusten mukaan epiteelisolutkin pystyvät erittämään HMGB1:tä [18].

Vaikka HMGB1:tä on spekuloitu jopa sopivaksi anti-inflammatorisen hoidon kohteeksi vaikeassa sepsiksessä, sen ennustearvosta elinhäiriöiden tai mortaliteetin suhteen on julkaistu vain muutama kliininen tutkimus. Vuonna 2005 julkaistiin ruotsalainen tutkimus, jossa 59:ltä vaikeaa sepsistä tai septistä sokkia sairastavalta potilaalta mitattiin TNF, interleukiini-6, -8 ja -10 sekä HMGB1-pitoisuudet viikon ajan. HMGB1-pitoisuudet pysyivät korkeina koko tutkimusjakson ajan, mutta pitoisuuksien ja sairauden vaikeusasteen välillä ei todettu korrelaatiota [19].

Finnsepsis-tutkimuspotilailta määritettiin myös seerumin HMGB1-konsentraatiot Western immunoblotting -menetelmällä 247 potilaalta ensimmäisenä tutkimuspäivänä ja 210 potilaalta

kolmen vuorokauden kuluttua. HMGB1-konsentraatiot olivat korkeammat vaikeaa sepsistä sairastavilla potilailla verrattuna terveisiin kontrolleihin ($p = 0{,}028$ ja $p = 0{,}019$), mutta eivät eronneet menehtyneiden ja selviytyneiden välillä [20].

Lopuksi

Pitkään käytössä olleet CRP ja prokalsitoniini säilyttävät edelleen asemansa kliinisen päätöksenteon apuna epäiltäessä tai poissuljettaessa mikrobilääkehoitoa vaativaa infektiota. CRP:n puutteena on hidas nousu infektion alkuvaiheessa ja epäspesifisyys yleistyneen tulehdusvasteen aiheuttajien erotusdiagnostiikassa eikä sillä ole ennusteellista merkitystä. Toisaalta CRP-tutkimus on helposti saatavilla, nopea ja edullinen. Prokalsitoniinimääritys on CRP:tä kalliimpi ja tutkimustulokset sen spesifisyydestä ovat edelleen ristiriitaisia. Uusista Finnsepsiksessä tutkituista ennustemarkkereista NT-proBNP näyttää lupaavimmalta, lisäksi siitä on kliinisessä käytössä oleva kaupallinen määritysmenetelmä. On kuitenkin muistettava, että korkeita NT-proBNP-pitoisuuksia (> 1000 pg/ml) esiintyy myös kompensoimattomassa sydämen vajaatoiminnassa, pulmonaalihypertensiossa ja keuhkoemboliassa septisen sokin lisäksi [11]. HMGB1- ja VEGF-pitoisuuksista ei näyttäisi olevan hyötyä vaikeaa sepsistä sairastavan potilaan ennusteen arvioimisessa. Ideaalista biomerkkiainetta ei siis vieläkään ole löytynyt. ❐

Kirjallisuusviitteet

1. American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992; 20: 864–74
2. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, ym. for Finnsepsis Study Group. Incidence, treatment and outcome of severe sepsis in ICU treated adults in Finland: the Finnsepsis study. Intensive Care Med 2007; 33: 435–43
3. Takala A, Jousela I, Jansson SE, ym.. Markers of systemic inflammation predicting organ failure in community-acquired septic shock. Clin Sci 1999; 97: 529–38
4. Dandona P, Nix D, Wilson MF, ym.. Procalcitonin increase after

endotoxin injection in normal subjects. J Clin Endocrinol Metab 1994; 79: 1605–8
5. Ruokonen E, Ilkka L, Niskanen M, Takala J. Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients. Acta Anaesthesiol Scand 2002:46:398–404
6. Aikuisten vaikean sepsiksen Käypä hoito -suositus. Duodecim 2005; 121: 1661–1669
7. Simon L, Gauvin F, Amre DK, ym.. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2004; 39: 206–17
8. Tang BMP, Eslick GD, Craig JC, McLean AS. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2007; 7: 210–17
9. Jensen JU, Heslet L, Jensen TH, ym.. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. Crit Care Med 2006 34; 2596–602
10. Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y, ym.. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. Crit Care Med 2004; 32: 660–5
11. Phua J, Lim TK, Lee KH. B-type natriuretic peptide: Issues for the intensivist and pulmonologist. Crit Care Med 2005; 33: 2094–13
12. Varpula M, Pulkki K, Karlsson S, ym.. Predictive value of NT-proBNP in severe sepsis and septic shock. Crit Care Med in press
13. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, ym.. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. Science 1983;83;983–985
14. van der Flier M, van Leeuwen HJ, van Kessel KP, ym.. Plasma vascular endothelial growth factor in severe sepsis. Shock 2005; 23: 35–8
15. Pickkers P, Sprong T, Eijk L, ym.. Vascular endothelial growth factor is increased during the first 48 hours of human septic shock and correlates with vascular permeability. Shock 2005; 24: 508-215
16. Yano K, Liaw PC, Mullington JM, ym.. Vascular endothelial growth factor is an important determinant of sepsis morbidity and mortality. J Exp Med. 2006; 203: 1447-58
17. Karlsson S, Pettilä V, Tenhunen J, ym. for the Finnsepsis Study Group. Vascular endothelial growth factor in severe sepsis and septic shock. Submitted
18. Liu S, Stolz DB, Sappington PL, ym.. HMGB1 is secreted in immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers. Am J Physiol Cell Physiol 2006; 290: 990–99
19. Sunden-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Rouhiainen A, ym.. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 2005; 33: 564–573
20. Karlsson S, Pettilä V, Tenhunen J, ym. for the Finnsepsis Study Group. HMGB1 in severe sepsis. Submitted

Sari Karlsson
anestesiologian erikoislääkäri,
tehohoitolääketieteen erityispätevyys,
vs. apulaisylilääkäri
Teho-osasto, TAYS
sari.karlsson@pshp.fi