



Sepse a personalizovaná medicína

doc. MUDr. MIROSLAV PRŮCHA, Ph.D.

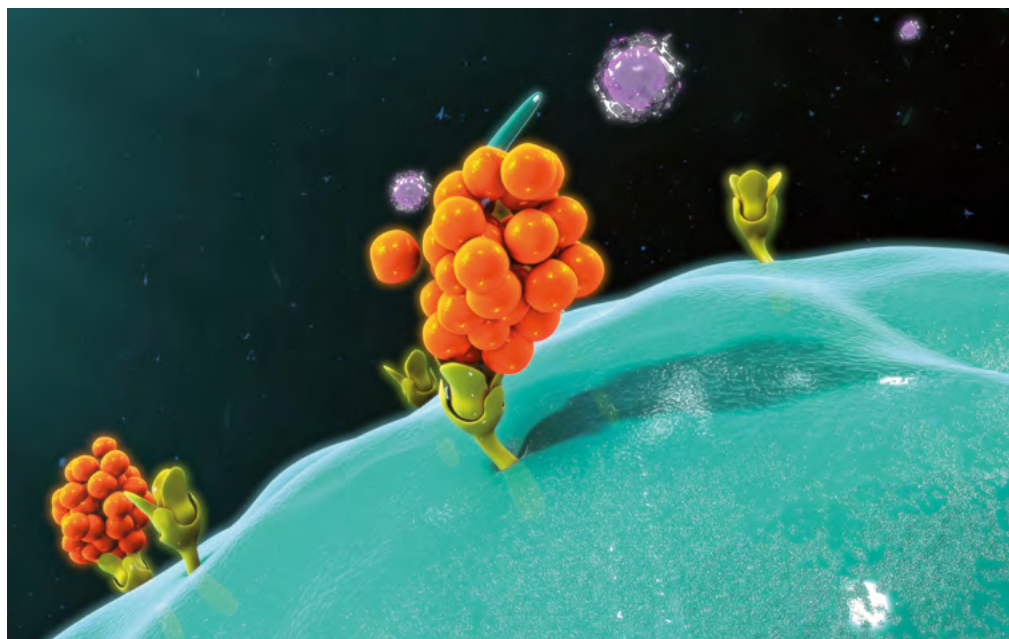
Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha

Jak dále v diagnostice sepse?

V uplynulých letech byla publikována celá řada originálních prací a přehledových review o biomarkerech sepse.^{1,2} Závěr je jednoznačný – v současnosti nemáme dostatečně senzitivní a specifický parametr pro infekční zánět. Přitom ale transkriptomické studie prokázaly, že genová exprese u infekčního a neinfekčního zánětu je rozdílná.^{3,4} V čem je tedy problém? Je to aktuální dostupnost parametrů, které jsme schopni měřit v plazmě nebo séru a které by měly být specifické jen pro infekční zánět. Tato dostupnost je mimo jiné určena technologiemi, které při stanovení těchto biomarkerů používáme.

Jaká je současná situace v diagnostice sepse? Při diagnostice sepse uplatňujeme dva přístupy, které se navzájem doplňují. Ten první provádí detekci biomarkerů spojených se zánětlivou reakcí organismu na infekci, ten druhý přímou diagnostiku infekčního agens. V obou případech

narážíme na řadu problémů. V prvním případě nemáme dosud k dispozici parametr, který by byl specifický pro infekční etiologii. Sepse je definována jako nepřiměřená imunitní reakce na infekci. Co by tedy měly ukazovat biomarkery sepse? Měly by definovat nebo interpretovat tuto nepřiměřenou imunitní reakci. Jaká je realita, resp. naše současné možnosti? Jsme schopni zjistit a měřit zánětlivou aktivitu organismu, kde nejvíce používanými a měřenými markery sepse v klinické praxi jsou prokalcitonin a C-reaktivní protein.^{5,6} Pomocí těchto parametrů stanovujeme a měříme intenzitu zánětlivé odpovědi, která ale není specifická jen pro infekční etiologii. Celá řada neinfekčních onemocnění je spojena s elevací těchto biomarkerů. Autoimunitní, kardiologická onemocnění, ale i iatrogenní působení, jako jsou operační zákroky nebo imunoterapie, jsou asociována se zvýšením těchto parametrů.^{7,8,9} Stanovení prokalcitoninu a C-reaktivního proteinu patří dnes ke zlatému standardu v diagnostice sepse, ale u žádného z nich není senzitivita a specifita dostatečná. Stále se pohybuje mezi 70 a 85 %, což znamená, že každý pátý vzorek je falešně pozitivní nebo falešně negativní. Z dalších užitečných parametrů je to



▲ Makrofág uvolňující cytokiny



stanovení IL-6. Interleukin-6 představuje jeden z nejdůležitějších prozánětlivých cytokinů se širokou škálou účinků jak za fyziologických, tak patologických podmínek.¹⁰ V diagnostice kriticky nemocných jej využíváme pro rozlišení infekční a neinfekční etiologie syndromu systémové zánětlivé odpovědi, nebo pro měření intenzity prozánětlivé aktivity a k predikci klinického výsledku.^{11,12} Možnost jeho měření ve statimovém režimu je důležitým předpokladem jeho širokého použití v klinické praxi.

Druhým nedílným přístupem je diagnostika infekčního agens pomocí mikrobiologických klasických kultivačních nebo molekulárně biologických metod. Přestože indikace antibiotické terapie během první hodiny onemocnění již není absolutně spojována s klinickým průběhem a mortalitou onemocnění, včasné nasazení antibiotik stále zůstává prioritou.¹³ V případě přímého průkazu infekčního agens nám současné mikrobiologické vyšetřovací metody podstatným způsobem zkrátily čas nezbytný k diagnostice, ale stále ne v dostatečné míře. A jsou zde další limity – detekce anaerobních bakterií, špatně kultivovatelných infekčních agens aj. Metody molekulární biologie dokážou ve velmi krátkém časovém intervalu zjistit přítomnost infekčních agens, ale jsou zde jiná omezení, např. nemožnost stanovení citlivosti na antibiotika.

Dostupnost a senzitivita metod

U sepsy stále platí a bude platit, že rychlost její diagnostiky hraje zásadní roli pro klinický výsledek. Vyšetřování biomarkerů sepsy musí být dostupné 24 hodin denně ve statimovém režimu. Pokud se podíváme na technologie, které v současnosti využíváme pro jejich detekci, jedná se o turbidimetrii nebo nefelometrii, popřípadě imunostanovení. Můžeme konstatovat, že za posledních 20 let nebyl objeven žádný nový parametr, jehož stanovení by přineslo zásadní pokrok při diagnostice sepsy.

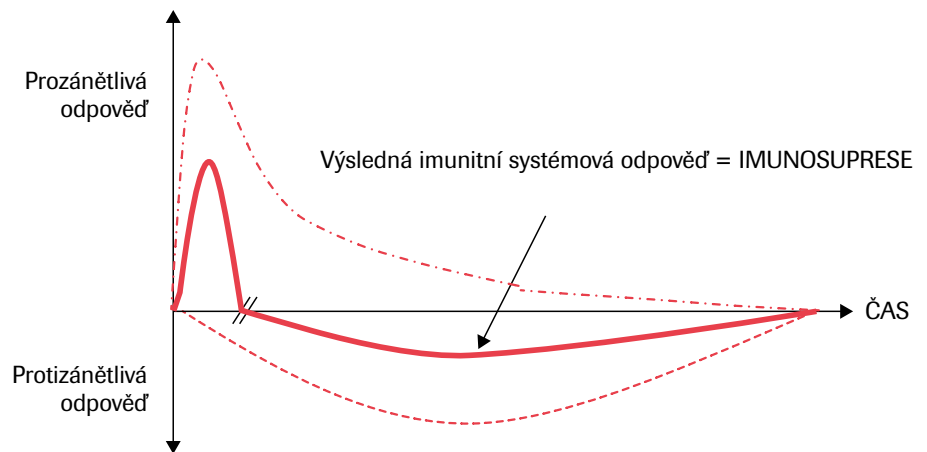
Nové možnosti nám ale nabízí využití metod molekulární biologie – konkrétně proteomiky, se stanovením parametrů, které nejsou detekovatelné aktuálně používanými metodami. Tyto nově nalezené markery můžeme měřit metodou hmotnostní spektrometrie, s relativně nízkými provozními náklady. Příkladem může být stanovení kyseliny arachidonové.¹⁴

Nevyužívání imunologických parametrů při diagnostice sepsy

Je to paradox. Ačkoli je sepsy definována jako nepřiměřená reakce imunitního systému na infekci, využití imunologických parametrů v klinické praxi je minimální. Přitom studie opakovaně prokázaly, že tyto parametry jsou důležité a užitečné jednak při stanovení diagnózy sepsy, jednak pro prognózu pacienta.¹⁵ Dysfunkci imunitní odpovědi u sepsy vidíme v čase, a to jak v humorální (protilátkové), tak buňkami zprostředkované imunitě.^{16,17} Výsledným funkčním stavem je imunosuprese (obr. 1). Laboratorní nálezy

U těchto pacientů můžeme navíc využít cílenou substituční terapii intravenózními imunoglobuliny.^{18,19} Stanovení koncentrace imunoglobulinů v séru je velmi jednoduché a dostupné s obdržením výsledku v řádu desítek minut od odběru. Exprese CD64 na neutrofilech je velmi užitečným a specifickým parametrem pro stanovení diagnózy sepsy,^{20,21} s využitím technologie průtokové cytometrie. Stanovení exprese HLA-DR na monocytech je parametrem tzv. imunoparalýzy a jeho význam pro prognózu pacienta byl opakovaně prokázán.^{22,23} Také zde můžeme v některých případech použít podpůrnou imunomodulační terapii.^{24,25} Limitem je používaná technologie průtokové cytometrie, která není dostupná pod dobu 24 hodin.

Úspěšná a včasná diagnostika sepsy má své konsekvence i v terapeutické části. Kromě již zmiňovaného příznivého vlivu včasného nasazení antibiotické terapie máme sice omezené, ale přece jen určité možnosti ovlivňující dysfunkci imunitního systému.^{26,27} Uplynulých 30 let



▲ Obr. č. 1: Dynamika systémové zánětlivé odpovědi s výslednou imunosupresí

mohou být velmi různorodé. U části pacientů dochází k významně zvýšené protilátkové odpovědi v důsledku infekce, kde koncentrace imunoglobulinů v séru je vysoká. Naproti tomu u nezanedbatelného počtu pacientů detekujeme hypogamaglobulinemii, která je prediktivním faktorem nepříznivého klinického výsledku.

sice vedlo k určité deziluzi stran imunomodulační terapie sepsy, ale právě nové možnosti „omicových“ technologií mají potenciál stratifikovat pacienty se sepsí podle jejich individuálně nastavených parametrů imunitní odpovědi k infekci, což povede k úspěšné imunomodulační terapii.²⁸



Souhrn

Zlepšení diagnostiky sepse nám přinese

i) využití proteomiky k detekci nových parametrů, které nejsme schopni měřit

aktuálně používanými technologiemi, ii) využití hmotnostní spektrometrie k jejich kvantitativnímu stanovení. Důsledkem včasné a spolehlivé diagnostiky sepse bude racionální použití

imunomodulační terapie. Rovněž v této oblasti je nezbytným předpokladem využití „omicových“ technologií a aplikace personalizované medicíny.



doc. MUDr. Miroslav Průcha, Ph.D.

Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha
Kontakt: miroslav.prucha@homolka.cz

Pracuje jako klinický imunolog na Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie v Nemocnici Na Homolce. „Sepse se mi stala osudem...“ Prakticky celou svou profesionální kariéru se věnuje problematice sepse – její diagnostice a imunomodulační terapii. Spolupracoval a spolupracuje s klinikami anesteziologie a intenzivní péče v České republice, v Německu, na Slovensku. Kromě toho se věnuje pacientům s vrozenými a získanými imunodeficity, vaskulitidami velkých cév, autoimunitními onemocněními – např. IgG4 asociovanými chorobami.

LITERATURA

1. Prucha M, Bellingan G, Zazula R. Sepsis biomarkers. *Clin Chim Acta*. 2015; 440: 97-103.
2. Liu Y, Hou JH, Li Q, Chen KJ, Wang SN, Wang JM. Biomarkers for diagnosis of sepsis in patients with systemic inflammatory response syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Springerplus*. 2016; 5(1): 2091. Published 2016 Dec 12. doi:10.1186/s40064-016-3591-5.
3. Zimmerman JJ et al. Diagnostic Accuracy of a Host Gene Expression Signature That Discriminates Clinical Severe Sepsis Syndrome and Infection-Negative Systemic Inflammation Among Critically Ill Children. *Crit Care Med* 2017, 45.4: e418-e425.
4. Mc Hugh L. et al. A Molecular Host Response Assay to Discriminate Between Sepsis and Infection-Negative Systemic Inflammation in Critically Ill Patients: Discovery and Validation in Independent Cohorts. *Plos Med* 2015, 12.12: e1001916.
5. Gluck E. et al. Real-world use of procalcitonin and other biomarkers among sepsis hospitalizations in the United States: A retrospective, observational study. *PLoS One* 2018, 13.10: e0205924.
6. Meissner M. Update on Procalcitonin Measurements. *Ann Lab Med*. 2014; 34(4): 263-273.
7. Molter GP et al. Procalcitonin plasma concentrations and systemic inflammatory response following different types of surgery. *Anaesthesia* 2003, 52: 210-217.
8. Buhaescu I, et al. Serum Procalcitonin in Systemic Autoimmune Diseases-Where Are We Now? *Seminar Arthritis Rheum* 2010, 40: 176-183.
9. Zazula R, Prucha M, Tyll T, Kieslichova E. Induction of procalcitonin in liver transplant patients treated with anti-thymocyte globulin. *Crit Care*. 2007; 11(6): R131.
10. Fuster JJ, Walsh K. The Good, the Bad, and the Ugly of interleukin-6 signaling. *EMBO J*. 2014, 33(13): 1425-1427.
11. Song J, Park DW, Moon S, Cho HJ, Park JH, Seok H, Choi WS. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis*. 2019; 19(1): 968.
12. Huang L, Zhao X, Qi Y, Li H, Ye G, Liu Y, Zhang Y, Gou J. Sepsis-associated severe interleukin-6 storm in critical coronavirus disease 2019. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(10): 1092-1094.
13. Vincent X Liu, Vikram Fielding-Singh, John D Greene, Jennifer M Baker, Theodore J Washyna, Jay Bhattacharya, Gabriel J Escobar The Timing of Early Antibiotics and Hospital Mortality in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 196(7): 856-863.
14. Kauppi AM, et al. Metabolites in blood for prediction of bacteremic sepsis in the emergency room. *PLoS One* 11(2016) e0147670.
15. Venet E, Lukaszewicz AC, Payen D, Hotchkiss R, Monneret G. Monitoring the immune response in sepsis: a rational approach to administration of immunoadjuvant therapies. *Curr Opin Immunol*. 2013; 25(4): 477-483.
16. Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality?. *J Clin Invest*. 2016; 126(1): 23-31.
17. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016;353:i1585. Published 2016 May 23.
18. Bermejo-Martin MF et al. Immunoglobulins IgG1, IgM and IgA: a synergistic team influencing survival in sepsis. *Journal Internal Medicine* 2014, 276.4, 404-412.
19. Prucha M, Zazula R, Herold I, Dostal M, Hyaneek T, Bellingan G. Presence of hypogammaglobulinemia in patients with severe sepsis, septic shock, and SIRS is associated with increased mortality. *J Infect*. 2014; 68(3): 297-299.
20. Dai J, Jiang W, Min Z, et al. Neutrophil CD64 as a diagnostic marker for neonatal sepsis: Meta-analysis. *Adv Clin Exp Med*. 2017; 26(2): 327-332.
21. Larsen FF, Petersen JA. Novel biomarkers for sepsis: A narrative review. *Eur J Intern Med*. 2017; 45: 46-50.
22. Monneret G, Lepape A, Voirin N, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive Care Med*. 2006; 32(8): 1175-1183.
23. Boeddha NP, Kerklaan D, Dunbar A, et al. HLA-DR Expression on Monocyte Subsets in Critically Ill Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37(10): 1034-1040.
24. Nalos M, Santner-Nanan B, Parnell G, Tang B, McLean AS, Nanan R. Immune effects of interferon gamma in persistent staphylococcal sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 185(1): 110-112.
25. Payen D, Faivre V, Miatello J, et al. Multicentric experience with interferon gamma therapy in sepsis induced immunosuppression. A case series. *BMC Infect Dis*. 2019; 19(1): 931. Published 2019 Nov 5.
26. Peters van Ton AM, Kox M, Abdo WF, Pickkers P. Precision Immunotherapy for Sepsis. *Front Immunol*. 2018; 9: 1926.
27. Steinhagen F, Schmidt SV, Schewe JC, Peukert K, Klinman DM, Bode C. Immunotherapy in sepsis - brake or accelerate?. *Pharmacol Ther*. 2020; 208: 107476.
28. Prucha M, Zazula R, Russwurm S. Immunotherapy of Sepsis: Blind Alley or Call for Personalized Assessment?. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2017; 65(1): 37-49.