

Značaj određivanja proinflammatoryh citokina u serumu politraumatizovanih bolesnika sa sepsom

Maja Šurbatović*, Krsta Jovanović*, Danilo Vojvodić†, Nikola Filipović*, Dragan Babić‡

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju,

†Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Medicinski fakultet, ‡Institut za medicinsku statistiku i informatiku, Beograd

Teška sepsa i trauma komplikovane sindromom multiple organske disfunkcije (MODS) najčešće su uzrok smrti u jedinicama intenzivne terapije, sa stopom mortaliteta koja premašuje 50%. Ishod nije određen samo infekcijom ili traumom već i intenzitetom imunoinflamatorne reakcije koja je esencijalna za odbranu organizma, ali ako je nekontrolisana dovodi do MODS-a. Deo te imunoinflamatorne reakcije predstavljaju proinflammatory citokini (faktor nekroze tumora -TNF- α , interleukin- IL-1, IL-8, IL-12, interferon - IFN- γ i dr.). Autori iznose rezultate sopstvenog kliničkog istraživanja korelacije između proinflammatoryh citokina (IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ), ishoda (umrli, preživeli) i težine kliničke slike (sindrom sistemske inflamatorne reakcije - SIRS - lakša klinička slika i MODS - teža klinička slika) kod politraumatizovanih osoba sa sepsom. Prosečne koncentracije IL-8 su bile 1,3 puta veće u grupi umrlih ($p<0,05$) i 60 puta veće u grupi sa MODS-om ($p<0,01$); prosečne koncentracije IL-12 su bile 1,6 puta veće u grupi preživelih ($p<0,01$), dok između grupa sa SIRS-om i MODS-om nije bilo statistički značajne razlike; prosečne koncentracije TNF- α su bile 3 puta veće u grupi preživelih ($p<0,05$) i 46 puta veće u grupi sa MODS-om ($p<0,01$). Prosečne koncentracije IFN- γ nisu se statistički značajno razlikovale između dve posmatrane grupe ni po težini kliničke slike ni po ishodu. Dobijeni rezultati ukazali su da je IL-8 pouzdan prediktor smrtnog ishoda i MODS-a ($p<0,01$), IL-12 preživljavanja ($p<0,05$) a, TNF- α preživljavanja ($p<0,05$) i MODS-a ($p<0,01$).

Ključne reči: povrede, multiple; sepsa; citokini; insuficijencija više organa; interleukin-8; interleukin-12; faktor nekroze tumora; interferon tipa II; preživljavanje; lečenje, ishod.

Uvod

Sepsa predstavlja sindrom sistemske inflamatorne reakcije (SIRS) koja nastaje kao rezultat procesa infekcije. Prema najnovijim istraživanjima, sepsa se javlja kod oko 500 000 bolesnika godišnje u SAD, odnosno čak 2 000 novih slučajeva teške sepse (sepsa sa akutnom organskom disfunkcijom) dnevno (1), sa mortalitetom u slučajevima teške sepse od 50%. Približno 50% takvih infekcija prouzrokovano je gramnegativnim bakterijama.

U toku poslednjih 50 godina intenzivno lečenje kritično obolelih osoba sa šokom, akutnom bubrežnom i respira-

tornom insuficijencijom je značajno poboljšano primenom novih lekova i savremenog praćenja vitalnih organa. Uprkos ovom napretku, 80-tih godina pojavio se novi problem – progresivno oštećenje funkcija više organa kod kritično obolelih i povređenih osoba. Mnogobrojne studije su pokazale da najveći problem u lečenju nije bilo osnovno oboljenje ili pojedinačna komplikacija, već proces progresivne disfunkcije nekoliko međuzavisnih organskih sistema – sindrom disfunkcije više organa (MODS).

Istraživanje sistemske inflamatorne reakcije na infekciju i traumu omogućava razumevanje ćelijskih i humoralnih imunskih mehanizama koji prouzrokuju sepsu i

sa njom povezanu disfunkciju organa i, često, smrt. Međutim, sepsa nije samo zapaljenje. Bolesnici sa teškom sepsom imaju trijadu: sistemsko zapaljenje, sklonost ka trombozi i poremećaj fibrinolize. Ova kombinacija je glavni pokretač morbiditeta i mortaliteta kod sepse. Kada jednom započne, spirala sepse je potpuno nezavisna od procesa infekcije koji je bio u osnovi. Ishod sepse nije određen samo infekcijom već i intenzitetom imunoinflamatorne reakcije (2).

Sinhronizacija imunske i inflamatorne reakcije zavisi od komunikacije između ćelija solubilnim molekulima koji se generički nazivaju citokini, a obuhvataju hemokine, interleukine (IL), faktore rasta i interferone (IFN).

Termin citokin primenjuje se na rastući broj proteina ili glikoproteina (trenutno >250) koji služe kao hemijski glasnici između ćelija, koji stimulišu rast i diferencijaciju ćelija, reparaciju i remodelovanje tkiva i regulaciju imunske reakcije. U urođenoj imunskoj reakciji efektorne citokine proizvode uglavnom mononuklearni fagociti i ćelije prirodne ubice (NK ćelije); s druge strane, većinu citokina u adaptivnoj, stečenoj imunskoj reakciji proizvode aktivirani T limfociti. Kod urođene imunosti bakterijski produkti, kao što su lipopolisaharid - LPS ili prokariotska DNK, ili virusni produkti, direktno stimulišu mononuklearne fagocite da sintetišu i oslobađaju citokine. Citokini koji potiču iz T ćelija primarno su odgovor na specifično prepoznavanje stranih antigena (3).

Citokine ne treba smatrati ključnim stimulatorima ili inhibitorima rasta, niti da im je dejstvo isključivo pro- ili antiinflamatorno. Njihova specifična dejstva zavise od stimulusa, tipa ćelije i prisustva drugih medijatora i receptora. Tip i broj receptora na ćelijskoj površini određuju sposobnost interleukina da kontroliše funkciju ćelije. Jedan od mehanizma kontrole ćelijske funkcije preko receptora je menjanje afiniteta za ligand. Pri različitim koncentracijama ligandi se vezuju za različite receptore i indukuju različite funkcije ćelije. Promena konformacije receptora ili internalizacija liganda sa receptorom mogu same po sebi regulisati prenos signala.

Cilj ovog istraživanja je bio da se utvrdi korelacija između proinflamatornih citokina i ishoda i težine kliničke slike kod politraumatizovanih bolesnika sa sepsom.

Metode

Istraživanje je obuhvatilo 25 osoba muškog pola, prosečne starosti 30,5 god, kojima je postavljena dijagnoza sindroma sistemske zapaljenjske reakcije (SIRS) ili sindroma disfunkcije više organa (MODS) nakon traume praćene sepsom. SIRS se smatra lakšom, a MODS težom kliničkom slikom. Bolesnici su hospitalno lečeni u Odeljenju intenzivne terapije Klinike za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA.

Svih 25 ispitanika bilo je povređeno, od toga 24 su bili ranjenici (eksplozivne i sklopetaarne povrede glave, grudnog koša, trbuha ili ekstremiteta uključujući i blast čitavog tela),

a kod jednog je u pitanju bila akcidentalna povreda (elektroekucija).

Kod svih bolesnika su povrede hirurški zbrinute. Svi su bili tretirani odgovarajućim antibioticima, vazopresorima, inotropnim lekovima uz adekvatnu nadoknadu cirkulatornog volumena. Takođe, kod svih su rađene hemokulture i mikrobiološka obrada briseva iz rana, endotrahejnih tuba, centralnih venskih katetera. Prema potrebi primenjivana je mehanička ventilacija i hemodijaliza.

U uzorcima plazme bolesnika određivana je koncentracija citokina (IL-12, IFN- γ , IL-8, TNF- α) komercijalnim ELISA testovima. IL-12 i IFN- γ određivani su testovima DIACLONE Research, Francuska; TNF- α i IL-8 ELISA testom MILENIA BIOTEC, Nemačka. U svakom uzorku venske krvi određivana je kompletna krvna slika sa leukocitnom formulom i osnovnim biohemijskim analizama. Takođe su rađene gasne analize arterijske krvi.

Uzorci krvi su kod svih bolesnika uzimani nultog dana (dan utvrđivanja SIRS-a odnosno MODS-a), a zatim su uzimana još dva uzorka trećeg i petog dana. U svim navedenim terminima uzimanja biološkog materijala utvrđivani su klinički parametri po bodovnom sistemu „Procena slabosti organa uzrokovane sepsom“ (SOFA-skor) (4) na osnovu čega je i postavljana dijagnoza MODS-a. U tabeli 1 prikazani su težina kliničke slike i ishod.

Tabela 1

Težina kliničke slike i ishod kod bolesnika (n=25) sa sepsom

Bolesnici red. broj	Težina kliničke slike	Ishod
1	MODS	umro
2	MODS	preživeo
3	MODS	umro
4	SIRS	preživeo
5	MODS	preživeo
6	MODS	umro
7	SIRS	preživeo
8	MODS	preživeo
9	MODS	umro
10	MODS	umro
11	MODS	umro
12	MODS	umro
13	MODS	umro
14	MODS	preživeo
15	SIRS	preživeo
16	MODS	umro
17	MODS	preživeo
18	MODS	umro
19	MODS	preživeo
20	SIRS	preživeo
21	MODS	umro
22	MODS	umro
23	MODS	preživeo
24	MODS	umro
25	MODS	umro

Koncentracija citokina je poređena prema težini kliničke slike (SIRS, MODS) i ishodu (preživeli, umrli). U analizi rezultata, zavisno od prirode samih varijabli, korišćen je Mann-Whitney test sume rangova za poređenje razlike između dve grupe parametarskih podataka po jednom obeležju. U situacijama kada je bilo više od dva obeležja primenjena je neparametarska analiza varijansnog količnika (ANOVA) po Kruskal - Wallisu, uz prethodno testiranje raspodele kao argument za njenu primenu. Za analizu dva atributivna obeležja korišćen je Pearsonov χ^2 test u obliku tablica kontingencije, a za analizu tri i više obeležja Fisherova analiza varijanse za proporcije. Radi identifikacije prediktora ishoda od multiplih statističkih metoda upotrebljene su faktorska i diskriminaciona analiza. U svim primenjenim analitičkim metodama nivo značajnosti bio je $p < 0,05$, a nivo visoke statističke značajnosti $p < 0,01$. U bazi podataka koja je pravljena za ovu studiju, a za potrebe statističke analize, kao jedinice posmatranja korišćena su merenja posmatranih obeležja (svaki pojedinačni biološki uzorak) a ne bolesnici. Statistička obrada je izvršena primenom kompjuterskog programa SPSS for Windows.

Rezultati

Kod svih bolesnika postojala je pozitivna hemokultura i bakterijski prouzrokovali su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2
Bakterije izolovane iz krvi bolesnika sa sepsom

Grampozitivne bakterije	Gramnegativne bakterije
<i>Bacillus species</i>	<i>Acinetobacter species</i>
Koagulaza negativan stafilokok	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella species</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas species</i>
	<i>Morganella morganii</i>
	<i>Citrobacter species</i>
	<i>Proteus species</i>

U tabeli 3. prikazani su deskriptivni parametri proinflatornih citokina u odnosu na ishod u grupi bolesnika sa udruženom sepsom i traumom i značajnost poređenja prosečnih koncentracija.

Tabela 3
Prosečne koncentracije citokina (pg/ml) prema ishodu u ispitivanoj grupi bolesnika

Citokin	Ishod	n	$\bar{x}$	SD
IL-8 *	umro	29	1 303,82	3 438,27
	preživeo	27	981,62	3 461,03
IL-12**	umro	29	44,00	65,40
	preživeo	27	69,77	83,96
IFN- γ	umro	29	2,86	7,47
	preživeo	27	491,16	2 542,48
TNF- α ***	umro	29	3,15	4,27
	preživeo	27	9,76	45,92

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,05$

Analiza prosečnih vrednosti posmatranih parametara pokazala je da postoje statistički visoko značajne razlike u odnosu na IL-12 i statistički značajne razlike u odnosu na IL-8 i TNF- α . Prosečne koncentracije IFN- γ nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na dve posmatrane grupe (umrli, preživeli).

Prosečne koncentracije IL-8 pokazuju statistički značajne razlike ($z = 2,289$; $df = 54$; $p < 0,05$) u odnosu na dve posmatrane grupe. Ova razlika je nastala zbog toga što su prosečne koncentracije IL-8 bile 1,3 puta veće u grupi umrlih.

Prosečne koncentracije IL-12 pokazuju statistički visoko značajne razlike ($z = 2,502$; $df = 54$; $p < 0,01$) u odnosu na dve posmatrane grupe. Ova razlika je nastala zbog toga što su prosečne koncentracije IL-12 bile 1,6 puta veće u grupi preživelih.

Prosečne koncentracije TNF- α pokazuju statistički značajne razlike ($z = 2,149$; $df = 54$; $p < 0,05$) u odnosu na dve posmatrane grupe. Ova razlika je nastala zbog toga što su prosečne koncentracije TNF- α bile 3 puta veće u grupi preživelih.

Diskriminaciona analiza potvrdila je rezultate faktorske pri čemu je ona u odnosu na ishod kao najznačajnije prediktore izdvojila IL-8 i IL-12. Tumačenje dobijenih vrednosti diskriminacione analize pokazuju da u odnosu na ishod, od proinflatornih citokina IL-8 utiče negativno, odnosno povećane koncentracije IL-8 upućuju na smrtni ishod sa statistički visokom značajnošću ($\rho = -0,463$; $df = 54$; $p < 0,01$). Povećane koncentracije IL-12 upućuju na dobru prognozu (preživljavanje) sa statističkom značajnošću ($\rho = 0,380$; $df = 54$; $p < 0,05$). Što se tiče IFN- γ i TNF- α , povećane koncentracije upućuju na preživljavanje, ali ne dostižu statističku značajnost.

U tabeli 4. prikazani su deskriptivni parametri proinflatornih citokina u odnosu na težinu kliničke slike u grupi bolesnika sa udruženom sepsom i traumom i značajnost poređenja prosečnih koncentracija.

Analiza prosečnih koncentracija posmatranih parametara pokazala je da postoje statistički visoko značajne razlike u odnosu na IL-8 i TNF- α . Prosečne koncentracije IL-12 i IFN- γ nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na dve posmatrane grupe (MODS, SIRS).

Prosečne koncentracije IL-8 pokazuju statistički značajne razlike ($z = 2,607$; $df = 54$; $p < 0,01$) u odnosu na dve posmatrane grupe. Ova razlika je nastala zbog toga što su prosečne koncentracije IL-8 bile 60 puta veće u grupi bolesnika sa MODS-om.

Prosečne koncentracije TNF- α pokazuju statistički značajne razlike ($z = 3,930$; $df = 54$; $p < 0,01$) u odnosu na dve posmatrane grupe. Ova razlika je nastala zbog toga što su prosečne koncentracije TNF- α bile 43,5 puta veće u grupi bolesnika sa MODS-om.

Prosečne koncentracije IFN- γ bile su veće u grupi bolesnika koji su razvili MODS, ali

ove razlike nisu dostigle statističku značajnost. Prosečne koncentracije IL-12 nisu se razlikovale između ispitivanih grupa.

grupi preživelih sa MODS-om; izrazito male (66 puta manje) prosečne koncentracije IL-8 su bile u grupi preživelih sa SIRS-om.

Tabela 4

Prosečne koncentracije citokina (pg/ml) prema težini kliničke slike u ispitivanoj grupi bolesnika

Citokin	Težina kl. slike	n	$\bar{x}$	SD
IL-8 *	SIRS	19	20	36
	MODS	37	1 195	3 522
TNF- α **	SIRS	19	0	0
	MODS	37	6	30
IFN- γ	SIRS	19	1	3
	MODS	37	205	1 639
IL-12	SIRS	19	42	24
	MODS	37	54	72

*p<0,01; ** p<0,01;

Diskriminaciona analiza potvrdila je rezultate faktorske analize pri čemu je ona u odnosu na težinu kliničke slike (SIRS, MODS) kao najznačajnije prediktore izdvojila TNF- α ($p = -0,426$; $df = 54$; $p < 0,01$) i IL-8 ($p = -0,283$; $df = 54$; $p < 0,01$). Tumačenje dobijenih vrednosti diskriminacione analize pokazuje da njihove povećane koncentracije upućuju na težu kliničku sliku (MODS) sa statistički visokom značajnošću. Ispitivane bolesnike podelili smo u tri grupe prema kliničkoj slici i ishodu: na bolesnike koji su razvili MODS i umrli, bolesnike sa MODS-om koji su preživeli i bolesnike sa SIRS-om koji su preživeli (tabela 5).

Prosečne koncentracije TNF- α pokazuju statistički visoko značajne razlike ($\chi^2_{KW} = 18,811$; $df = 2$; $p < 0,01$) u odnosu na tri posmatrane grupe. Prosečne koncentracije TNF- α bile su najveće u grupi preživelih sa MODS-om, zatim 4 puta manje u grupi umrlih sa MODS-om, a 78 puta manje u grupi preživelih sa SIRS-om.

Diskusija

Infekcija i trauma su najčešći uzroci smrti. Približno 50% smrtnih slučajeva događa se zbog iskrvarenja ili komplikacija vezanih za centralni nervni sistem unutar jednog sata nakon teških trauma, a sledećih 30% žrtava umire tokom narednih 1-2 sata zbog teških povreda unutrašnjih organa.

Tabela 5

Prosečne koncentracije citokina (pg/ml) prema kliničkoj slici i ishodu u ispitivanoj grupi bolesnika

Citokin	Težina kl. slike i ishod	n	$\bar{x}$	SD
IL-8 *	MODS umro	29	1 320	3558
	MODS preživeo	8	1 006	3528
	SIRS preživeo	19	20	36
	MODS umro	29	3	4
TNF- α **	MODS preživeo	8	10	47
	SIRS preživeo	19	0	0
	MODS umro	29	2	7
	MODS preživeo	8	510	2591
IFN- γ	SIRS preživeo	19	1	3
	MODS umro	29	44	60
	MODS preživeo	8	68	88
IL-12	SIRS preživeo	19	42	24

*p<0,01; ** p<0,01;

Analiza prosečnih koncentracija posmatranih parametara pokazala je da postoje statistički visoko značajne razlike u odnosu na IL-8 i TNF- α . Prosečne koncentracije IL-12 i IFN- γ nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na tri posmatrane grupe (MODS umrli, MODS preživeli, SIRS preživeli).

Prosečne koncentracije IL-8 pokazuju statistički značajne razlike ($\chi^2_{KW} = 18,471$; $df = 2$; $p < 0,01$) u odnosu na tri posmatrane grupe. Prosečne koncentracije IL-8 bile su najveće u grupi umrlih sa MODS-om, zatim nešto manje u

grupu sa MODS-om koji su umrli i u odnosu na grupu bolesnika koji su razvili SIRS i preživeli.

Infekcija i trauma su najčešći uzroci smrti. Približno 50% smrtnih slučajeva događa se zbog iskrvarenja ili komplikacija vezanih za centralni nervni sistem unutar jednog sata nakon teških trauma, a sledećih 30% žrtava umire tokom narednih 1-2 sata zbog teških povreda unutrašnjih organa. Od onih bolesnika koji prežive inicijalni insult, više od 50% umire u sledećih nekoliko dana do nedelja zbog sekundarnih infekcija (sepsa) i/ili multiple organske disfunkcije.

Istraživanja su pokazala da postoje značajne promene i u urođenim i u stečenim imunskim funkcijama kod osoba koje su doživele tešku traumu ili prolongirane hirurške procedure.

Ove promene obuhvataju suprimiranu sposobnost neutrofila za ubijanje bakterija, defektnu opsonizaciju, izmenjenu funkciju makrofaga, smanjen humoralni imunitet, supresiju re-

aktivnosti T i B limfocita i izmenjeno oslobađanje pro- i antiinflamatornih medijatora/citokina.

Citokini se razlikuju od klasičnih endokrinih hormona u sledećem: (1) proizvode ih mnogi tipovi ćelija a ne organi; (2) primarno se stvaraju *de novo* u odgovoru na stimulus; (3) nije dokazana njihova značajna uloga u normalnoj homeostazi; (4) često se indukuju u odgovoru na egzogene (ne endogene) stimuluse i (5) imaju autokrine i parakrine efekte (5).

Imunoinflamatorna reakcija, u kojoj jednu od glavnih uloga imaju citokini, je esencijalna za rezoluciju infekcije, ali se može dogoditi da na nekontrolisan način prouzrokuje oštećenje organizma. Naglašena sinergija i interakcija komponenata imunskog sistema diktiraju da modulacija može rezultovati ili imunostimulacijom (proinflamatornim stanjem) ili imunosupresijom (antiinflamatornim stanjem).

Trauma koja je dovoljno velika da indukuje oštećenje velike količine tkiva i hipovolemijski hemoragijski šok rezultuje masivnim oštećenjem imunske reaktivnosti.

Kako neadekvatna odbrana protiv invazije patogenih mikroorganizama neminovno dovodi do razvoja oboljenja, postavljena je hipoteza da povredom indukovna anergija predstavlja glavnu determinantu visoke osetljivosti traumatizovanih prema teškim infekcijama. Anergija, jedan od fundamentalnih mehanizama endogene imunske supresije koja je indikator gubitka specifične odbrambene funkcije organizma, rezultat je dva entiteta imunskog mehanizma koji su pogubna posledica teške traume: sistemske, nediskriminantne, ekscesivne inflamacije celog organizma i dramatične paralize ćelijama posredovane imunske funkcije. Danas se zna da su određeni delovi imunskog sistema stimulisani, dok su drugi suprimirani u kompleksnom nizu događaja koji još uvek nije sasvim jasan (6).

Trauma i/ili šok rezultuju dubokom imunosupresijom koja bolesnike predisponira ka nastanku septičkih komplikacija i/ili MODS-a. U smislu odbrambenog odgovora na mikrobnii insult imunski sistem pokazuje bifazni odgovor komparabilan metaboličkom i cirkulatornom odgovoru kod sepse. Inicijalno se javlja preterana sistemska inflamatorna reakcija, a tokom vremena dolazi do stanja generalizovane hiporeaktivnosti imunskih ćelija.

Ova hiporeaktivnost može direktno ili indirektno doprineti nesposobnosti obolelog da se bori protiv letalnih efekata sepse. Dolazi do gubitka imunskih ćelija procesom apoptoze i to doprinosi imunosupresiji koja se vidi kasnije tokom sepse, a može biti faktor koji vodi u posledični MODS (6).

Proučavanje interakcija imunskog sistema domaćina sa patogenim mikroorganizmima ukazalo je na važnost urođene imunske reakcije, odnosno na važnost početnih faza u kojima produkcija medijatora inflamacije ima ključno mesto u daljem toku i ishodu reakcije na infekciju i traumom.

Stvaranje proinflamatornih citokina, ukoliko ostane pod kontrolom, od izuzetne je važnosti kao zaštita, jer omogućuje pokretanje i harmonizaciju reakcije na takav način da dolazi do kontrole infekcije i njene eliminacije sa najmanje mogućim štetnim posledicama po organizam domaćina. To je saglasno sa našim rezultatima da povećane vrednosti IL-12, IFN- γ i TNF- α upućuju na preživljavanje, pri čemu IL-12 to čini sa statističkom značajnošću.

Kod bolesnika sa traumom i sepsom nekontrolisana sekrecija medijatora inicira, omogućuje progresiju ili je posledica niza disfunkcija različitih organskih sistema. Brojni su pokušaji identifikacije medijatora koji bi bili parametri toka i eventualni prediktori ishoda kod traumatizovanih bo-

lesnika sa sepsom. U našem istraživanju povećane vrednosti IL-8 upućivale su na smrtni ishod i težu kliničku sliku sa statistički visokom značajnošću u grupi traume sa sepsom (84% bolesnika je imalo MODS, mortalitet 56%), a koncentracija se kretala u rasponu od 0 do 12 989 pg/ml. Diskriminaciona analiza koncentracije IL-8 potvrdila je da je on dobar prediktor težine kliničke slike i ishoda. U istraživanju Holzheimera i saradnika (7) koje je obuhvatilo 128 bolesnika koji su bili podvrgnuti velikim intraabdominalnim hirurškim zahvatima i najmanje 2 dana bili hospitalizovani u jedinicama intenzivne terapije, ispitivani su klinički i citokinski parametri koji bi bili prediktori ishoda.

Multivarijansna analiza je pokazala da je od svih citokina samo IL-8 dobar prediktor ishoda (senzitivnost 84%; specifičnost 90%). Utvrđeno je da postoje povećane koncentracije IL-8 kod sepse koja se razvila nakon ovih hirurških zahvata. U ovom istraživanju koncentracija IL-8 se kretala u rasponu od 20 do 10 000 pg/ml, (normalno 0–70 pg/ml). Kod septičnih bolesnika sa hirurškom traumom visoke vrednosti cirkulišućeg IL-8 korelirale su sa smrtnim ishodom, što je u skladu sa našim istraživanjem.

Saglasno sa ovim rezultatima su i nalazi Reinharta i saradnika (8), koji su pokazali da od svih parametara inflamacije koji se koriste u dijagnozi i praćenju sepse povećanje koncentracije IL-8 najbolje korelira sa težinom i smrtnim ishodom. Povećanje koncentracije IL-8 u sistemske cirkulaciji koreliralo je sa težom kliničkom slikom i kod naših traumatizovanih bolesnika. Liener i saradnici (9) su, takođe, pokazali da su bolesnici sa težom akcidentalnom traumom (ISS>32) imali značajno povećanje vrednosti IL-8 u odnosu na grupu sa blažom traumom.

Glavni induktori sekrecije IL-8 su IL-1 i TNF- α , nastali kao reakcija mononukleusnih fagocita na niz bakterijskih produkata. Sa druge strane, T limfociti mogu direktno sekretovati IL-8 u odgovoru na stimulaciju lektinima, dok endotelne ćelije sekreću IL-8 po aktivaciji. Prema tome, prekomerna produkcija IL-8 bi bar u početku bila posledica aktivacije mononukleusnih fagocita, dok bi izrazito visoke sistemske vrednosti mogle biti posledica neregulirane generalizovane sekrecije iz više različitih ćelijskih izvora. Poremećena fibrinoliza i izmenjen proces koagulacije ukazuju na izmenjenu, generalizovanu aktivnost endotela, koji bi mogao biti glavni izvor nekontrolisane produkcije IL-8.

Za razliku od IL-8, povećane vrednosti faktora nekroze tumora alfa u sistemske cirkulaciji bolesnika sa različitim težinom sepse ukazuju na veće preživljavanje. Kao što smo pokazali u ranijem ispitivanju (10), svi bolesnici u čijim je uzorcima vrednost TNF- α bila preko 200 pg/ml preživeli su sepsu. Brojna ispitivanja na animalnim modelima sepse (11) i kod bolesnika sa septičkim šokom (12) takođe su pokazala da je teži ishod povezan sa sniženjem sistemske koncentracije TNF- α . Autori su pretpostavili da ovaj fenomen nastaje porastom stvaranja prirodnih inhibitora dejstva TNF- α , solubilnih receptora za TNF- α .

Diskriminaciona analiza koncentracije IFN- γ je pokazala da nema značajne razlike između grupe umrlih i preživelih, kao ni između grupe sa MODS-om i grupe sa SIRS-om, što ukazuje da IFN- γ u našim ispitivanjima nije bio pouzdan prediktor ni težine kliničke slike ni ishoda. U odgovoru na bakterijsku infekciju monociti/makrofagi produkuju IL-12, koji podstiče T limfocite i NK ćelije na sekreciju IFN- γ . Razlika u produkciji IFN- γ između pojedinih bolesnika, osim genetskih varijacija, mogla bi biti i posledica infekcije različitim mikroorganizmima.

Naime, pokazano je da su gram-pozitivne bakterije značajno snažniji induktori sekrecije IL-12 iz humanih monocita u odnosu na gram-negativne bakterije (13). U našem ispitivanju povećane vrednosti IL-12 su upućivale na dobru prognozu (preživljavanje); takođe, bolesnici sa gram-pozitivnom sepsom imali su bolju prognozu od bolesnika sa gramnegativnom sepsom.

Rezultati studije Lina i sar. (14) na animalnom modelu peritonitisa nedvosmisleno su pokazali da se preživljavanje životinja povećava egzogenim dodavanjem IL-12, dok je neutralizacija pogoršavala tok i rezultovala visokom stopom letaliteta.

Zaključak

Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da praćenje sistemskih koncentracija proinflammatory medijatora može da pruži dodatne informacije o toku i prognozi kod bolesnika sa sepsom i/ili traumom.

L I T E R A T U R A

1. *Balk RA, Ely W, Wesley EE, Goyette RE*, editors. Sepsis Handbook. Nashville, Tennessee: National Initiative in Sepsis Education; 2001.
2. *Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL*. Cytokine signaling – regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000; 28 (4 Suppl) N3–12.
3. *Galley HF, Webster NR*. The immuno-inflammatory cascade. *Br J Anaesth* 1996; 77(1): 11–6.
4. *Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, de Mendonca A, Bruining H*, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22(7): 707–10.
5. *Shapiro L, Gelfand JA*. Cytokines in disease. In: *Shoemaker WC, Ayres SM, Grenvik A, Holbrook PR*, editors. Textbook of Critical Care. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.
6. *Chung CS, Chaudry IH, Ayala A*. The Apoptotic Response of the Lymphoid Immune System to Trauma, Shock, and Sepsis. In: *Vincent JL*. editor. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine; Berlin: Springer-Verlag; 2000. p. 26–40.
7. *Holzheimer RG, Capel P, Cavaillon JM, Cainzos M, Frileux P, Haupt W*, et al. Immunological surrogate parameters in a prognostic model for multi-organ failure and death. *Eur J Med Res* 2000; 5(7): 283–94.
8. *Reinhart K*. Diagnosis of sepsis: novel and conventional parameters. *Minerva Anesthesiol* 2001; 67(10): : 675–82.
9. *Liener UC, Bruckner UB, Knoferl MW, Steinbach G, Kinzl L, Gebhard F*, et al. Chemokine activation within 24 hours after blunt accident trauma. *Shock* 2002; 17 (3): 169–72.
10. *Šurbatović M*. Activity of tumor necrosis factor in the blood of patients with sepsis of different severity [master's thesis]. Beograd: Vojnomedicinska akademija; 1998. (in Serbian)
11. *Karakozis S, Hinds M, Cook JW, Kim D, Provido H, Kirkpatrick JR*. The effects of interleukin-10 in hemorrhagic shock. *J Surg Res* 2000; 90(2): 109–12.
12. *Sfeir T, Saha DC, Astiz M, Rackow EC*. Role of interleukin-10 in monocyte hypo-responsiveness associated with septic shock. *Crit Care Med* 2001; 29(1): 129–33.
13. *Hessle C, Andersson B, Wold AE*. Gram-positive bacteria are potent inducers of monocytic interleukin-12 (IL-12) while gram-negative bacteria preferentially stimulate IL-10 production. *Infect Immun* 2000; 68(6): : 3581–6.
14. *Lin E, Calvano SE, Lowry SF*. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127(2): : 117–26.

Rad je primljen 26. V 2003. god.

Abstract

Šurbatović M, Jovanović K, Vojvodić D, Filipović N, Babić D. Vojnosanit Pregl 2004; 61(2): 137–143.

SIGNIFICANCE OF THE DETERMINATION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE SERUM OF POLYTRAUMATIZED PATIENTS WITH SEPSIS

Severe sepsis and trauma complicated with multiple organ dysfunction syndrome (MODS) are among the leading causes of death in intensive therapy units, with mortality rate exceeding 50%. The outcome is not determined only by infection or trauma, but also by the intensity of immuno-inflammatory response, which is essential for host defence, but if uncontrolled leads to MODS. Pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor- α -TNF- α , IL-1, IL-8, IL-12, IFN- γ , etc.) represent a part of this immuno-inflammatory response to an insult. The results of the clinical investigation of correlation between pro-inflammatory cytokines (IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ), the outcome (survivors, non-survivors), and the severity (systemic inflammatory response syndrome - SIRS - less severe, and MODS - more severe) in polytraumatized patients with sepsis are presented in this paper. Mean values of IL-8 were 1.3-fold higher in non-survivors ($p < 0.05$), and 60-fold higher in MODS group ($p < 0.01$). Mean values of IL-12 were 1.6-fold higher in survivors ($p < 0.01$), while the values between SIRS and MODS group did not differ significantly; mean values of TNF- α were 3-fold higher in survivors ($p < 0.05$), and 46-fold higher in MODS group ($p < 0.01$). Mean values of IFN- γ did not differ significantly between the two groups regarding the outcome and severity. The obtained results indicated that IL-8 was a reliable predictor of lethal outcome and MODS ($p < 0.01$), IL-12 a reliable predictor of survival ($p < 0.05$), and TNF- α a reliable predictor of survival ($p < 0.05$) and MODS ($p < 0.01$).

Key words :

multiple trauma; sepsis; cytokines; multiple organ failure; interleukin-8; interleukin-12; tumor necrosis factor; interferon type II; survival; treatment outcome.