

ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА – МАРКЕРА СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ОСТРОМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

**Тишкевич¹ М.Н., Сукало² А.В., Бураковский¹ А.И., Байко² С.В.,
Карпенко¹ Т.А., Ястребова¹ А.А.**

¹*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь, 220141, ул. Купревича 5/2, e-mail: info@iboch.bas-net.by*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь, 220116, пр. Дзержинского, 83, e-mail: kafedra.pediatric1@yandex.by*

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) на сегодняшний день является одной из актуальных медико-социальных проблем педиатрии. На это указывает постоянный рост заболеваемости, высокая вероятность летального исхода, хронизация патологии почек и отсутствие специфических методов диагностики и лечения.

ГУС – заболевание, основным клиническим проявлением которого является гемолитическая анемия тяжелой степени, тромбоцитопения и поражение почек, вследствие чего в 55-70% случаев развивается острая почечная недостаточность [1]. Ведущую роль в возникновении этого заболевания играют бактерии кишечной палочки – *Escherichia coli* определенных серотипов, продуцирующие шига-подобный токсин (Stx), также известный как веротоксин, который и обуславливает тяжелую клиническую картину. Большинство случаев (70-80%) вызвано *E. coli* O157:H7; кроме того, причиной ГУС могут быть другие серотипы кишечной палочки O111:H8, O103:H2, O104:H4, O121, O145, O26, O113, O55:H7 и т.д. или *Shigella dysenteriae* типа 1. ГУС, ассоциированный с шига-токсином (Stx-ГУС) составляет 90% всех случаев, а атипичный (non-Stx-ГУС) до 10%.

Наиболее высокая заболеваемость характерна для детей в возрасте от 1 года до 5 лет, при этом смертность младенцев и детей младшего возраста в острой фазе Stx-ГУС, сопровождающаяся поражением центральной нервной системы, головного мозга, в индустриально развитых странах достигает 3-5% [2].

Несмотря на проводимые в течение последних лет многочисленные исследования, связанные с Stx-ГУС, и использование новых медицинских технологий в лечении до сих пор нет окончательного мнения о патогенетических механизмах, не установлена роль и участие в них различных звеньев иммунной системы, что, в свою очередь, не позволяет формировать группы риска, четко сформулировать принципиальные подходы к патогенетически обоснованной терапии этого заболевания и прогнозированию его течения. До настоящего времени вопросы этиологии, патогенеза, диагностики и лечения ГУС остаются недостаточно изученными и важными для клинической педиатрии.

Лабораторная оценка ГУС включает рутинные исследования: общий анализ крови (тромбоциты, лейкоциты, гемоглобин), биохимический анализ крови (определение электролитов, печеночных ферментов и билирубина, мочевины и креатинина, общего белка и альбуминов, лактатдегидрогеназы), коагуляционный профиль, а также культуральные исследования крови и кала. Особое внимание следует уделить выявлению патогенных штаммов кишечной палочки, в частности O157:H7, которому приписывается ведущая роль в патогенезе ГУС. Лабораторная диагностика шига-токсин ассоциированного ГУС сложна и требует использования специальных питательных сред с сорбитолом для выделения *E. coli* O157. Кроме того, определения только серотипа O157 недостаточно, необходимо доказать присутствие веротоксина, который могут выделять не только штаммы *E. coli* O157.

Что касается эффективности современных микробиологических тестов, то хотя они и отличаются высокой специфичностью, их общая чувствительность не превышает 25-45%, а время, необходимое для получения результатов (24-48 и более часов) может оказаться

неприемлемо долгим. От точности и быстроты такой дифференциальной диагностики будет зависеть и стратегия терапии и, в конечном счете, исход заболевания.

В последние годы появилась возможность обнаружения широкого спектра специфических биомаркеров в сыворотке крови и моче методом иммуноферментного анализа (ИФА), что значительно расширило диагностический потенциал лабораторий при подозрении на наличие ГУС.

Воспаление, возникающее после какой-либо формы тканевого повреждения, сопровождается продукцией цитокинов и белков острой фазы, определение которых может говорить о наличии воспаления и степени его тяжести. В некоторых случаях определение белков острой фазы или цитокинов может свидетельствовать о природе воспалительного процесса или его осложнениях, хотя воспалительные процессы в целом очень схожи, независимо от причин. В этой связи понятен интерес исследователей и клиницистов к прогормонам кальцитонина и, прежде всего к прокальцитонину, который, как считают некоторые исследователи, является специфическим маркером инфекции [3].

Прокальцитонин – 116 аминокислотный полипептид с молекулярной массой 12,8 кДа, предшественник гормона кальцитонина, в физиологических условиях синтезируется С-клетками щитовидной железы из препрокальцитонина под влиянием кальцийзависимых факторов [4]. Уровень прокальцитонина у здорового человека очень низок – менее 0,1 нг/мл. Однако при тяжелой бактериальной инфекции с манифестацией воспалительного процесса под влиянием эндотоксинов при участии цитокинов происходит резкая экстратиреоидальная выработка прокальцитонина, которая коррелирует с выраженностью воспалительной реакции, что вызывает интерес исследователей к возможности клинического применения прокальцитонина как одного из маркеров Stx-ГУС.

Простота определения концентрации прокальцитонина, его биохимические и физиологические свойства (период полураспада 25-30 ч., четкая корреляция с тяжестью воспалительного процесса, стабильность *in vitro*) и некоторые преимущества перед другими показателями воспаления делают прокальцитонин перспективным маркером для рутинного использования в диагностике при критических состояниях.

Цель работы: оценка возможностей прокальцитонина в диагностике острого ГУС у детей.

В исследование были включены 25 пациентов с диагнозом острый ГУС, группу контроля составили 28 практически здоровых детей. Пациенты с диагнозом острый ГУС проходили обследование в УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска. Обследование включало сбор данных анамнеза, анализ медицинской документации, клиническое наблюдение, лабораторные и инструментальные методы исследования.

У пациентов с острым ГУС (n=25) проведена оценка возможных факторов неблагоприятного исхода заболевания: возраст; регион проживания; группа крови и резус; длительность продромального периода; наличие судорог и геморрагической сыпи при поступлении; выделение энтерогеморрагической *E.coli* и веротоксина; степень выраженности анемии, тромбоцитопении, лейкоцитоза и сроки нормализации этих параметров; степень повышения креатинина и мочевины и продолжительность этих нарушений; целесообразность переливаний крови и ее компонентов; объем антибактериальной терапии; наличие артериальной гипертензии, длительность анурии и диализного лечения. Проведен забор образцов сывороток крови в 4 основных патогенетических точках: 1 точка – поступление в стационар, 2 точка – восстановление нормального уровня тромбоцитов, 3 точка – нормализация скорости мочеотделения и 4 точка – снижение уровней креатинина до возрастной нормы.

В образцах проб (сыворотка крови), полученных в день поступления пациентов в стационар, определяли уровень прокальцитонина методом иммуноферментного анализа с помощью наборов Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ, Вектор-Бест (РФ).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов приложений Microsoft Office XP для статистической обработки материала – Microsoft Excel

(версия 9.0) и программы Statistica (версия 10.0). Результаты представлены в виде медианы, минимального и максимального значений. Достоверность различий полученных данных определяли по t-критерию Стьюдента. Также использовали непараметрические методы статистики (анализ по Манну-Уитни, достоверность $p < 0,05$).

Иммунохимическая оценка содержания прокальцитонина у пациентов с острым ГУС показала резкое и значимое усиление экспрессии данного биологического маркера в сыворотке крови (максимальная концентрация) при поступлении в стационар 2,617 нг/мл [0,112; 57], что более чем в 100 раз превышает значение медианы уровня прокальцитонина в группе контроля – 0,025 нг/мл [0,003; 0,115] и является достоверным показателем наличия тяжелой бактериальной инфекции в организме и позволяет говорить о прокальцитонине, как об одном из перспективных маркеров (наряду с маркерами острого повреждения почек) в диагностике ГУС.

Наш опыт позволяет считать прокальцитонин высокочувствительным и специфичным маркером системной воспалительной реакции у детей с ГУС, а также важным фактором оценки степени тяжести пациента и мониторинга эффективности проводимой терапии.

Литература

1. Филатов Л. Б., Щинов А. И., Трофимов А. А. и соавт. // Редкие гематологические болезни и синдромы. Под ред. М.А. Волковой. М.: Практическая медицина. 2011.
2. Байко С. В. // Нефрология и диализ. 2007. Т. 9, № 4. С. 377-386.
3. Wicher J., Bienvenu J., Monneret G. // Ann. Clin. Biochem. 2001. Vol. 38. pp. 483-493.
4. Васильев Г.А., Мищенко Д.Л., Шлапак И.П. и соавт. // Украинский медицинский журнал. 2002. Т. 30, № 4. С. 17-27.

IMMUNOCHEMICAL DETERMINATION OF PROCALCITONIN – SYSTEMIC INFLAMMATORY REACTION MARKER AT ACUTE HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME

Tishkevich¹ M.N., Sukalo², A.V.Burakovski¹ A.I., Baiko² S.V., Karpenka¹ T.A., Yastrebova¹ A.A.

¹ *Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus, 220141, 5/2 Kuprevich Str., e-mail: info@iboch.bas-net.by*

² *Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus, 220116, 83 Dzerzhinsky Av., e-mail: kafedra.pediatric@yandex.by*

The purpose of this study is to evaluate the opportunities of procalcitonin in the diagnosis of acute hemolytic-uremic syndrome (HUS) in children. An integrated study of 53 patients (25 with acute HUS, 28 – control group) was conducted. For all patients the level of serum procalcitonin was determined with ELISA method. Dramatic and significant increase of the procalcitonin concentration in serum at HUS (hospital admission) was observed, that more than in 100 times greater than the concentration of procalcitonin in controls.