

Cercetarea răspunsului imunoinflamator în peritonitele acute bacteriene

C. Siloși¹, F. Ghelase¹, I. Siloși³, Șt.M. Ghelase², S. Rogoz³, F. Cioară¹, S. Râmboiu¹, T. Bratiloveanu¹,
St. Patrascu¹, Gh. Neață¹

¹Clinica I Chirurgie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Nr. 1, Craiova

²Catedra de Sănătate publică și management sanitar, UMF Craiova

³Catedra de Microbiologie și imunologie, UMF Craiova

Rezumat

Scop: Cercetarea mediatorilor imunoinflamatori care modelează evoluția peritonitelor acute, precum și evaluarea utilității lor în precizarea evoluției de la peritonită la șocul septic.

Material și metodă: Am efectuat un studiu prospectiv pe un lot de 100 pacienți cu peritonite acute, internați în perioada 2001-2005 monitorizați imunologic. Am realizat 2000 de dozări ale mediatorilor imunoinflamatori, în dinamică timp de 15 zile, prin 1200 de teste de imunodifuziune radială simplă (IDRS), metoda Mancini-Carbonara pentru proteina C reactivă, componenta C3 a complementului, imunoglobuline și 836 teste ELISA pentru evaluarea citokinelor. Rezultatele au fost raportate la un grup martor.

Rezultate: Dozarea proteinei C reactive (CRP) a evidențiat valori crescute semnificativ la pacienții cu peritonită (12-310 ng%), față de lotul martor (1,5-8 ng%) în ser. Postoperator, valori crescute s-au menținut în formele cu evoluție gravă sau complicații și s-au corelat cu multiple disfuncții organice la pacienții decedați. Dozarea complexelor imune circulante au evidențiat valori mai crescute la bolnavii cu peritonită. Dozarea citokinelor pro și/sau antiinflamatorii pot fi specifice severității răspunsului inflamator la infecție. Nivelul procalcitoninei (PCT) a fost crescut la pacienții cu sepsis și reacții inflamatorii severe devenind un mijloc de prognostic important.

Concluzii: studiul markerilor biologici la agresiunea microbiană, evidențiază rolul citokinelor ca mesageri și importanți mediatorii ai răspunsului imunoinflamator. Testul PCT poate fi introdus în protocolul de urmărire zilnică a pacienților septici.

Cuvinte cheie: peritonitele acute bacteriene, citokine

Abstract

The evaluation of immunoinflammatory response in acute bacterial peritonitis

Aim: To evaluate the immunoinflammatory markers that shape the evolution of acute peritonitis and to assess their utility in specifying the development of septic shock from peritonitis.

Material and method: We conducted a prospective study on a sample of 100 patients with acute peritonitis, hospitalized during 2001-2005 and immunologically monitored. We realized 2000 dosages of immunoinflammatory markers for 15 days by 1200 simple radial immunodiffusion tests (IDRS), the Mancini-Carbonara method for C reactive protein, complement component C3, immunoglobulins and 836 ELISA tests to evaluate cytokines. Results were reported to a witness group. **Results:** C reactive protein (CRP) values were significantly elevated in patients with peritonitis (12-310 ng%) vs. witness group (1.5-8 ng%). Postoperative, elevated values were maintained at the patients who will develop serious complications and were correlated with multiple organic dysfunction in deceased patients. Determination of circulating immune complexes have shown elevated values in patients with peritonitis. Dosage of pro/antiinflammatory cytokines may be specific to

Correspondență: Prof. Dr. Fane Ghelase
Clinica I Chirurgie, Spitalul Clinic de Urgență Nr. 1
Str. Tâbaci, Nr. 1, Craiova
Tel/Fax: 0251-502308
Email: mghelase@lycos.com

the severity of inflammatory response to infection. The level of procalcitonin was increased in patients with sepsis and severe inflammatory reactions and become an important prognostic tool.

Conclusions: The study of biological markers in microbial aggression highlights the role of cytokines as messengers and important mediators of immunoinflammatory response. PCT test can be introduced in the daily tracking protocol for septic patients.

Key words: acute bacterial peritonitis, cytokines

Introducere

Peritoneul reacționează la agresiunea microbiană printr-un răspuns inflamator. Rolul factorilor implicați în medierea răspunsului imun al organismului și în dezvoltarea sindromului de răspuns inflamator sistemic (SIRS), al disfuncției multiple de organ (MSOF) a fost unul dintre obiectivele majore de cercetare în ultima decadă. Sunt însă insuficiente datele comparative referitoare la magnitudinea răspunsului citokinelor la nivel intraperitoneal și la implicațiile acestora asupra gazdei. Unele date sugerează că peritonita acută bacteriană este asociată cu un intens răspuns al citokinelor la nivelul compartimentului intraperitoneal. Niveluri crescute de anumite citokine au fost asociate cu debutul unor infecții grave intraperitoneale cum ar fi peritonita secundară neglijată, capabile să activeze cascada inflamatorie sistemică.

Pornind de la ideea că activarea sistemică a inflamației caracterizează formele severe de peritonită acută și creează premisele sindromului de disfuncție multiorganică cu funcția imună grav alterată, cu eliberarea excesivă de citokine și alți mediatori (cascada SIRS), am considerat necesară determinarea unor mediatori ai răspunsului inflamator sistemic pentru prognosticul formelor severe de peritonită acută. În acest context am cercetat valoarea celor mai importanți mediatori ai inflamației, respectiv proteina C reactivă, componenta C3 a complementului, procalcitonina, complexe imune circulante, factorul de necroză tumorală (TNF- α), interleukinele: IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, ca markeri de diagnostic și prognostic în peritonitele acute și în special la pacienții care prezentat disfuncții multiorganice induse de agresiunea microbiană.

Obiectivele cercetării au fost:

- investigarea mediatorilor imuno-inflamatori care modulează evoluția peritonitei acute bacteriene,
- aprecierea utilității investigării acestor parametri în precizarea progresiei de la peritonită la șocul septic.

Material și Metodă

Cercetările reprezintă un studiu prospectiv efectuat pe un lot de 100 pacienți cu peritonită acută bacteriană, internați în perioada octombrie 2001 - mai 2005, care a fost monitorizat din punct de vedere imunologic. Au fost realizate 2000 de dozări ale mediatorilor imunoinflamatori, efectuate în

dinamică pe o perioadă de 15 zile de la debut. Imunomarkerii umorali au fost dozați prin 1200 teste de imunodifuziune radială simplă (IDRS), metoda Mancini-Carbonara (pentru proteina C reactivă, componenta C3 a complementului și imunoglobuline) și prin 836 teste ELISA pentru evaluarea citokinelor. Rezultatele au fost raportate la un grup martor constituit din 20 de pacienți internați pentru afecțiuni chirurgicale, dar fără semne clinice sau paraclinice de peritonită acută sau infecție localizată sau sistemică.

Înregistrarea cu ajutorul programului Excel a datelor despre pacienți a produs baza de date inițială din care s-au extras aspectele semnificative ale cercetării. Pentru prelucrarea statistică a datelor s-a folosit programul Microsoft Excel, precum și pachetele de software EPI2000 existente la OMS.

Rezultate

1. Dozarea proteinei C reactive (CRP)

Pentru lotul de 100 de bolnavi investigați din punct de vedere imunologic, proteina C reactivă a fost determinată la internare, după stabilirea diagnosticului de peritonită, postoperator la 48-72 de ore și la 3-5 zile în funcție de evoluția clinică. Au fost efectuate inițial măsurătorile valorilor CRP la același lot martor de 20 de pacienți chirurgicali fără semne de infecție, SIRS sau sepsis, în trei zile consecutiv. S-au obținut valori CRP < 10 ng/ml la toți subiecții testați (valori normale < 10 ng/ml).

Determinările timpurii, corelate cu momentul debutului peritonitei acute, au evidențiat valori semnificativ crescute ale concentrațiilor serice de CRP la bolnavii de peritonită (12-310 ng/dl în funcție de severitate) față de lotul martor (1,5-8 ng/dl).

În cazul pacienților cu evoluție favorabilă, postoperator la 24 și 48 de ore valorile CRP au cunoscut o ușoară scădere, pentru ca ulterior, la 5-7 zile acestea să scadă semnificativ.

Valori crescute postoperator ale CRP s-au observat la bolnavii cu evoluție gravă sau complicații postoperatorii.

Valori mari ale CRP s-au corelat cu numărul mare (3-7 disfuncții organice) de disfuncții organice la pacienții decedați.

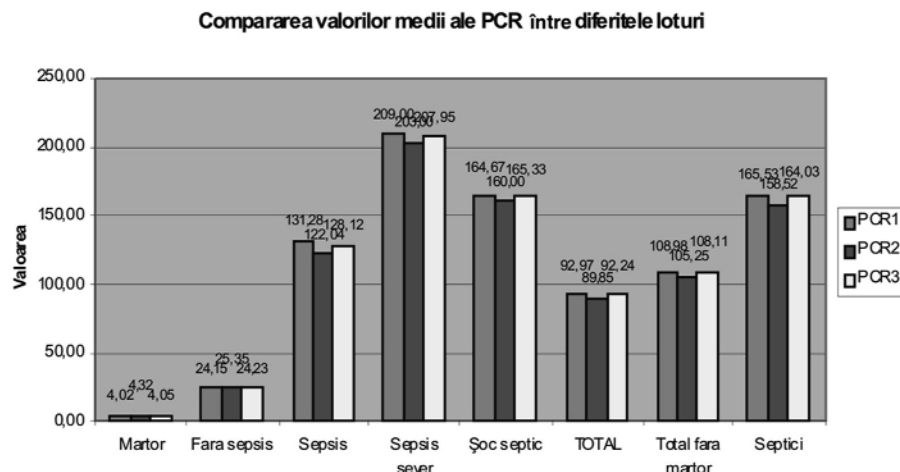
Pacienții cu evoluție spre sepsis sever și șoc septic au prezentat postoperator valori ale CRP cuprinse între 70 și 310 g/l. Pacienții fără sepsis au prezentat o curbă descendentă a valorilor CRP în perioada postoperatorie, corelată cu evoluția clinică.

Evoluția clinică spre sepsis a fost marcată de creșterea treptată a valorilor CRP, uneori ajungând la 240 mg/l.

Pacienții cu sepsis sever și șoc septic au prezentat valori ale CRP cuprinse între 70-310 ng/l, cele mai mari valori fiind înregistrate la pacienții decedați după 72 de ore de la internare.

Analizând valorile CRP obținute la diferite intervale de timp în cursul internării, remarcăm oscilațiile valorii medii ale acesteia la diferitele loturi investigate, cu mult peste valoarea medie calculată pentru lotul martor ($4,15 \pm 0,15$ ng/l). (Grafic 1)

Grafic 1. Dinamica valorilor medii ale CRP



Compararea valorilor medii pentru concentrațiile serice ale CRP demonstrează o diferență înalt semnificativă ($p < 0,01$) între lotul martor și pacienții cu sepsis sau șoc septic. Deasemenea s-a remarcat o diferență înalt semnificativă statistic între valorile medii ale CRP la pacienții cu sepsis față de cei cu sepsis sever (p între 0,0001 și 0,00032). Diferența a fost doar semnificativă statistic între pacienții cu sepsis sever și cei cu șoc septic ($p < 0,05$, dar $> 0,01$).

2. Dozarea complexelor imune circulante (CIC) și a componentei C3 a complementului

Determinările concentrațiilor serice ale complexelor imune circulante au evidențiat valori mai crescute la bolnavii cu peritonită, cuprinse între 8-138 pg/ml, lotul martor prezentând valori de 10-60 pg/ml (Grafic 2). Componenta C3 a complementului a prezentat concentrații serice cuprinse între 42-136 pg/ml la bolnavii cu peritonită, valorile fiind invers proporționale cu severitatea manifestărilor clinice. Lotul martor a prezentat valori ale concentrațiilor serice de C3 cuprinse între 48-120 pg/ml. Se constată o corelație scăzută între valorile concentrațiilor serice ale complexelor imune circulante și cele ale componentei C3 a complementului la bolnavii cu

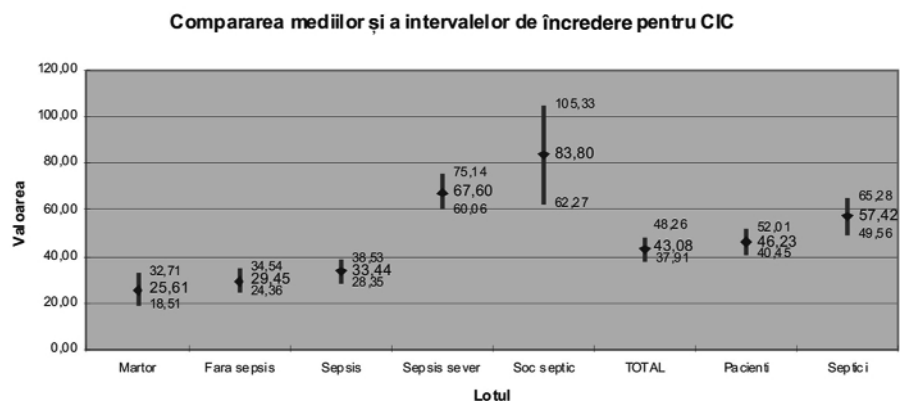
peritonită acută. Gradul cel mai înalt de corelație între valorile C3 și CIC s-a constatat la lotul de pacienți cu șoc septic, indicele de corelație lineară Pearson (R) fiind 0,7708.

Un mare număr de bacterii și particule străine pot cauza un consum fiziologic pronunțat al componentelor sistemului complement. Noi am remarcat o slabă corelare a valorilor C3 - CIC la unii pacienți afectați de sepsis și sepsis sever.

În cadrul lotului de studiu s-a remarcat o scădere mai pronunțată a valorilor C3 la pacienții cu evoluție defavorabilă. Corelația de regresie a demonstrat o relație puternică între nivelul C3 și severitatea sepsisului. Deasemenea am remarcat o importantă corelație între nivelul C3 scăzut și mortalitate.

Valoarea medie a concentrației C3 (40 mg%) găsită la pacienții decedați a fost evident mai scăzută față de cea găsită la cei care au supraviețuit (68 mg%). Compararea valorilor medii pentru concentrațiile serice ale CIC demonstrează o diferență înalt semnificativă doar între lotul martor și pacienții cu "sepsis sever" sau șoc septic ($p < 0,01$). Deasemenea, o diferență înalt semnificativă s-a observat și între pacienții cu sepsis și șoc septic pentru valorile medii ale CIC determinate la diferite intervale de timp pre și postoperator ($p < 0,01$).

Grafic 2. Dinamica concentrațiilor serice ale CIC în loturile investigate



Diferențele nu au fost semnificative din punct de vedere statistic, valorile lui p depășind 0,05 ($p = 0,14843$) când am comparat valorile medii ale CIC la pacienții cu “sepsis sever” și “șoc septic”.

3. Dozarea citokinelor (Interleukinele 2, 6, 8, 10 și TNF α)

Pornind de la ideea, regăsită în numeroase studii de specialitate, conform căreia concentrațiile plasmatice ale citokinelor pro sau antiinflamatorii pot fi specifice severității răspunsului inflamator și infecției sau pot fi corelate cu evoluția sau prognosticul pacienților, am introdus în studiul nostru și o analiză a celor mai implicate dintre acestea, respectiv IL-2, 6, 8 și TNF α . Determinările concentrațiilor serice ale IL-6, IL-8, TNF α (citokine proinflamatorii Th1) și IL-10 (citokine antiinflamatorii Th2) efectuate în primele 24-48 de ore de la internare, apoi la 24-72 ore postoperator și la 5-7 sau 9 zile, au evidențiat următoarele:

- valori semnificativ crescute ale concentrațiilor de interleukină 6 (IL-6) la bolnavii cu peritonită (18-4000 pg/ml în funcție de gravitate), comparativ cu lotul martor (2-30 pg/ml);
- valori mai crescute ale concentrațiilor serice de IL-6 la pacienții care au prezentat semne clinice de sepsis, culminând cu valori de 4000 pg/ml în șocul septic.

Compararea valorilor medii ale concentrațiilor serice de IL-6 demonstrează o diferență înalt semnificativă statistic a acestora la lotul martor față de pacienții cu “sepsis” ($p < 0,01$). De asemenea am remarcat o diferență înalt semnificativă statistic a valorilor medii ale IL-6 între pacienții cu “sepsis” și cei cu “șoc septic” (p cuprins între 0 și 0,00891). Se remarcă o diferență semnificativă a valorilor medii ale IL-6 la pacienții cu “sepsis sever” față de cei cu “șoc septic” ($p > 0,01$ dar $< 0,05$). Concentrațiile serice de interleukina 8 (IL-8) la bolnavii cu peritonită au fost cuprinse între 40-3000 pg/ml, comparativ cu lotul martor, la care valorile acesteia nu au depășit 35 pg/ml. În stările de șoc septic am remarcat o creștere semnificativă statistic ($p < 0,01$) a concentrațiilor serice de IL-8, de până la 3000 pg/ml. La bolnavii cu evoluție severă

valorile medii ale IL-8 s-au menținut ridicate, sugerând persistența sepsisului în perioada postoperatorie. Valorile medii ale concentrațiilor serice de IL-8 au fost diferite semnificativ la pacienții cu “șoc septic” față de cei cu “sepsis sever” ($p < 0,05$).

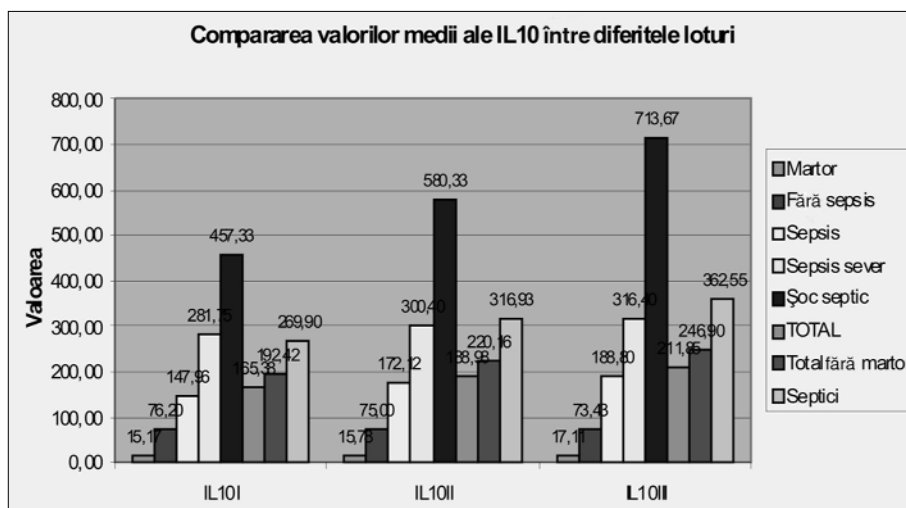
Factorul de necroză tumorală TNF α a avut valori ale concentrațiilor serice mult crescute la bolnavii cu peritonită, cuprinse între 40-1010 pg/ml, în timp ce lotul martor a prezentat concentrații serice ale TNF α cuprinse între 2-19 pg/ml. TNF α a înregistrat următoarele valori medii în funcție de cele 3 categorii de severitate: 160,6 – 117,52 pg/ml la pacienții cu sepsis, 309,00-255,45 pg/ml pentru cei cu sepsis sever și 636,67-513,33 pg/ml la pacienții cu șoc septic. Compararea valorilor medii ale concentrațiilor serice de TNF α la lotul martor și pacienții cu sepsis și șoc septic demonstrează o diferență înalt semnificativă statistic ($p < 0,01$). În ceea ce privește compararea valorilor medii ale concentrațiilor serice de TNF α la pacienții cu “sepsis sever” față de cei cu “șoc septic” demonstrează o diferență semnificativă statistic ($p > 0,01$ dar $< 0,05$).

Concentrațiile serice de interleukină 10 (IL-10) la bolnavii cu peritonită au cunoscut valori cuprinse între 40-1300 pg/ml, în timp ce lotul martor a prezentat concentrații serice cu valori între 3-34 pg/ml. Compararea valorilor medii ale concentrațiilor serice de IL-10 la lotul martor și pacienții cu “sepsis” și “șoc septic” demonstrează o diferență înalt semnificativă statistic ($p < 0,01$). Deasemenea, există o diferență înalt semnificativă ($p < 0,01$) și între valorile medii ale IL-10 la pacienții cu “sepsis” față de cei cu “sepsis sever” sau “șoc septic”.

În ceea ce privește compararea valorilor medii ale concentrațiilor serice de IL-10 la pacienții cu “sepsis sever” față de cei cu “șoc septic” demonstrează o diferență semnificativă statistic ($p > 0,01$ dar $< 0,05$).

În ceea ce privește IL-10 rezultatele obținute pentru cele trei categorii ACCP/SCCM au evidențiat valori medii ale concentrațiilor serice semnificativ diferite: 147,96 - 188,80 pg/ml la cei cu “sepsis”, 281,75 - 316,40 pg/ml pentru categoria “sepsis sever” și respectiv 457,33 - 713,67 pg/ml pentru cei cu “șoc septic/MODS”. (Grafic 3) Media concentrațiilor CRP a crescut în primele 48 h (CRP 1, 2) și a atins jumătate din valoarea sa

Grafic 3. Valorile medii ale concentrațiilor serice ale IL-10 la diferite intervale de timp



maximă în a 5-a zi după operație. Nivelurile scăzute ale CRP s-au corelat cu severitatea bolii și au sugerat dezvoltarea șocului septic și o evoluție defavorabilă. Am remarcat corelații între valorile CRP III și IL-6III, suspectând o stimulare a sintezei de CRP sub acțiunea concentrațiilor înalte de IL-6.

Nivelul seric al citokinelor IL-6, IL-8 și TNF alfa a fost semnificativ mai înalt la bolnavi față de cel determinat la subiecții martori, fapt explicabil prin eliberarea acestor citokine sub stimularea endotoxinei bacteriene. (Grafic 4)

Concentrațiile parametrilor proinflamatorii au scăzut la pacienții la care s-a reușit anihilarea infecției bacteriene. IL-8 joacă un rol important în apărarea gazdei față de infecțiile cu bacterii Gram negative prin recrutarea neutrofilelor la sediul infecției.

Pacienții afectați de peritonită generalizată, cu evoluție spre șoc septic, au prezentat valori superioare ale acestor factori solubili (IL-6, IL-8, TNF α) comparativ cu cei cu evoluție favorabilă.

Putem afirma că în peritonitele care au progresat spre șoc septic a existat un anumit răspuns imun timpuriu înainte de declanșarea șocului septic. Acest fenomen a fost cel mai bine corelat cu intensificarea secreției de TNF α . Valorile crescute ale citokinei anti-inflamatorii IL-10, evidențiate la bolnavii cu peritonită fără evoluție spre starea de sepsis, sugerează existența unui control reglator al procesului inflamator prin însăși producții solubili ai pacientului.

Principali germenii asociați cu decesul au fost E. coli și Bacteroides. La acești pacienți afectați de peritonită cu evoluție defavorabilă am remarcat pe lângă valorile semnificativ crescute

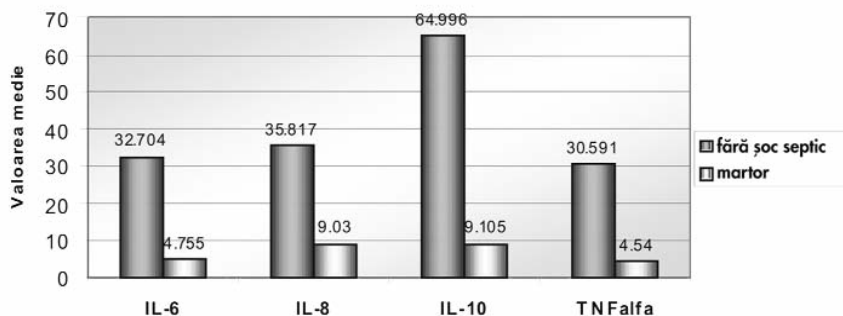
ale TNF α și IL-6, și descreșterea IL-10 (Grafic 5) fapt care ne-a determinat să afirmăm că superproducția de TNF alfa și IL-6 raportată la diminuarea IL-10 poate constitui un principal indicator al progresiei peritonitei spre/șoc septic. În prima zi după șoc ritmul de creștere a concentrațiilor IL-6 a fost mult mai rapid față de cel al TNF α . Descreșterea valorilor acestor parametri a început în a 3-a zi după instalarea șocului; diminuarea IL-6 a tins să fie mult mai pronunțată în grupul supraviețuitorilor, fapt semnalat și de alte comunicări. Rata mortalității a crescut la pacienții care au prezentat valorile cele mai mari de IL-6 din ser. Din acest motiv IL-6 poate fi considerat un marker bun pentru aprecierea severității bolii.

Datele obținute de noi contribuie la înțelegerea patogenizei stării de sepsis sugerând că bacteriile ca și producții lor au activat o rețea necontrolată de mediatori solubili ai gazdei infectate cum sunt citokinele proinflamatorii (ex. TNF α , IL-6) care au condus la colaps cardiovascular și la deces. În ciuda rolului important al acestor citokine în producerea disfuncției cardiace în șocul septic, sunt insuficient cunoscute mecanismele biochimice de bază prin care patogenii bacterieni induc exprimarea citokinelor la nivelul cordului. Cercetarea noastră sugerează importanța unor imunomodulatori care pot fi utilizați independent sau împreună cu alți agenți terapeutici în prevenirea și tratamentul sepsisului bacterian grav.

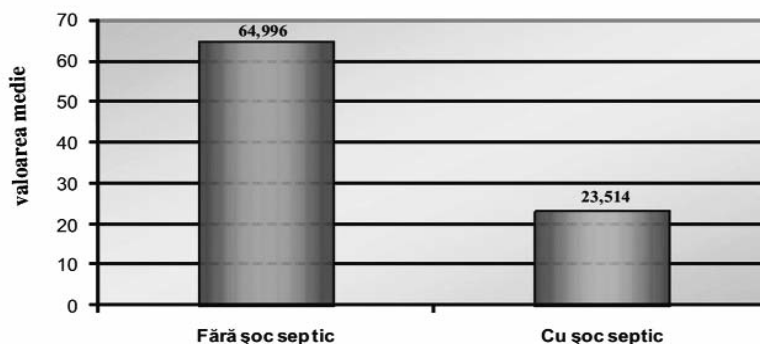
4. Dozarea procalcitoninei

Lansarea procalcitoninei (PCT) în 1996, a devenit un mijloc diagnostic deosebit de important pentru identificarea infecțiilor bacteriene severe și detectarea complicațiilor

Grafic 4. Dinamica citokinelor în peritonita acută fără șoc septic



Grafic 5. Dinamica citokinei antiinflamatorii IL-10 în peritonita acută cu/fără șoc septic



determinate de inflamația sistemică. Nivelurile PCT au crescut în mod special la pacienții cu sepsis, șoc septic și reacții inflamatorii sistemice severe, fapt semnalat și de alți autori (1,2). PCT îndeplinește condițiile necesare pentru a putea fi introdus în protocolul de urmărire zilnică a pacienților septici. Am observat că o singură determinare pe zi a fost suficientă pentru diagnosticul adecvat și monitorizarea pacienților cu risc de a dezvolta complicații septice. Spre deosebire de alți markeri folosiți PCT a facilitat și urmărirea în dinamică a evoluției clinice.

Dozările de PCT au fost realizate la 10 dintre subiecții martor și la 25 pacienți cu sepsis, la 14 cu șoc septic și la 20 cu sepsis sever. Concentrațiile de PCT au fost crescute la pacienți față de subiecții martor, reținând valorile cele mai înalte în lotul bolnavilor cu șoc septic. Am remarcat existența unor corelații semnificative între CRP și citokina IL-6 sau IL-8 ($R_2=0,57$, respectiv $0,50$) și între PCT și CRP.

Discuții

Peritonita acută reprezintă inflamația difuză sau localizată a seroasei peritoneale; datorită gravității sale această afecțiune constituie o urgență medico-chirurgicală. Cercetări în domeniu susțin că la baza dezvoltării inflamației se află o cascadă de evenimente, orchestrată de citokine. Evoluția unei afecțiuni este determinată de echilibrul efectelor citokinelor pro- și anti-inflamatorii, a cărei durată este variabilă. Starea de sepsis este asociată cu o producție înaltă de citokine proinflamatorii și variate specii de agenți oxidanți.

Sindromul septic este consecința răspunsului gazdei la infecția bacteriană extinsă și se caracterizează prin hipotensiune. Scăderea perfuzării organelor, tromboza microvasculară și ischemia organică pot conduce la disfuncție organică și moarte.(3) Celulele apărării înăscute recunosc prezența bacteriei invadante și inițiază răspunsul gazdei prin eliberarea de citokine care recrutează celule inflamatorii, prin creșterea clearance-ului bacterian și prin activarea celulelor imune adaptative să genereze anticorpi specifici antigenului.

Echilibrul între procesele pro și anti-inflamatorii este de importanță majoră în reacția organismului la infecție, injurie sau traumă chirurgicală. Este clar stabilit faptul că anestezia, sedarea și chirurgia majoră, compromit o mare varietate de funcții imune ceea ce predispune pacienții la infecții post-operatorii, complicații septice și disfuncții respiratorii. Multe analgetice, sedative și mulți agenți anestezici utilizați perioperator sau în terapie intensivă modifică componente ale răspunsului imun.

Eliberarea de citokine de către limfocite, monocite, granulocite și celule endoteliale este extrem de importantă pentru reacțiile imune. La subiecții sănătoși citokinele pro și anti-inflamatorii se află în echilibru. Acest echilibru poate fi perturbat de trauma chirurgicală, infecția bacteriană și de drogurile administrate perioperator.

Când citokinele și celulele inflamatorii sunt prezente în cantități suficiente, patogenii sunt îndepărtați fără consecințe adverse. Cantități excesive sau dezechilibrul citokinelor pro- și anti-inflamatorii conduc la sindromul septic și uneori la deces.

Sepsisul reprezintă principala cauză de deces în unitățile de terapie intensivă non-coronariană, având costuri de tratament foarte ridicat (legate de spitalizare, intervenții farmacologice, manevre diagnostice, etc.). În fiecare zi, 1.400 de oameni din întreaga lume mor din cauza sepsisului sever. În secțiile de terapie intensivă (ICU) din Uniunea Europeană sepsisul sever și șocul septic (sepsisul sever asociat cu tensiune arterială mică) se asociază cu pierderea anuală a 135.000 de vieți și implică costuri de sănătate legate de pacienți de ordinul a 7,6 miliarde de euro, aproximativ 24-32% din costurile totale ale secțiilor de terapie intensivă. În Europa, sepsisul sever se asociază, în fiecare an, cu o rată de deces similară cu aceea pentru cancerul pulmonar, cancerul de sân sau cancerul de colon. Incidența sepsisului conform unor studii epidemiologice în SUA a crescut de la 82 - 240%O locuitori, ca și decesele datorate acestuia, deși în ultima vreme rata mortalității printre pacienții cu sepsis s-a redus. Mortalitatea globală a fost în jur de 28%. (4)

Evaluarea complementară (testele de laborator) a sepsisului este capabilă să releve două aspecte:

- cercetarea agentului agresiv, prin investigarea microbiologică a pacientului;
- identificarea alterărilor de metabolism sau ale homeostaziei cu scopul de a urmări compromiterea sistemică sau implicarea unui organ specific.

În ciuda eforturilor, culturile din sânge sunt pozitive doar în 34% din pacienții "septici". Multe din aceste episoade sunt caracterizate prin "sepsis" în afara bacteriemiei. În evaluarea compromiterii sistemice laboratorul cercetează indicatorii serici ai răspunsului inflamator (mediatori endogeni, indicatorii fazei acute) și indicatorii dereglărilor organice și metabolice, în ideea de a afla tratamentul adecvat. Indicatorii prezenței unui răspuns inflamator, în majoritatea cazurilor nu prezintă o sensibilitate și specificitate pentru diagnosticul sepsisului dar pot avea o valoare pentru pronostic și pentru monitorizarea terapeutică a răspunsului gazdei. (4)

Creșterea valorilor concentrațiilor citokinelor din ser, factorul stimulator de colonii de granulocite (FSG), oxid nitric din plasmă, pot fi indicatori timpurii ai SIRS. Procalcitonina care este eliberată în circulație împreună cu citokinele pot avea valoare pentru diagnosticul timpuriu al sepsisului (5,6). Diagnosticul sepsisului se referă la primele schimbări cu care se confruntă clinicianul, când nu este suficient de timpuriu să poată interveni dar poate avea ca rezultat șocul, insuficiența organică sau decesul pacientului. Diagnosticul precoce al sepsisului este dificil, deoarece simptomele inițiale pot fi imperceptibile. În plus, indiciile indirecte de laborator (hemograma, studiul coagulării, glicemia etc), utilizate uzual pentru a pune diagnosticul de sepsis au o sensibilitate mică și o specificitate și mai redusă. Similar, rezultatele examinărilor bacteriologice nu sunt imediat accesibile pentru a ghida terapia specifică.

Pe parcursul ultimei decade, numeroși markeri ai inflamației au fost sugerați pentru diagnosticul timpuriu al sepsisului, printre care cercetarea serică a anumitor citokine cum sunt: IL-1,6,8,10, TNF α , proteina C reactivă, procalcitonina, C3. (4)

Investigațiile imunologice realizate în probele de ser prelevate de la pacienți au relevat modificări în concentrația biomarkerilor studiați. Concentrațiile proteinei C reactive au fost găsite crescute la pacienții cu peritonită bacteriană în comparație cu subiecții din lotul martor. Nivelurile scăzute ale CRP au fost corelate de unii autori (7) cu severitatea bolii și au sugerat o evoluție defavorabilă.

Interleukinele sunt citokine proinflamatorii specifice severității răspunsului inflamator și a infecției. Concentrațiile plasmatiche ale IL-6, IL-8 și IL-10 pot fi corelate cu evoluția pacienților spre vindecare, iar IL-6 are o valoare foarte mare în evaluarea prognosticului vital. IL-6 este un mediator al răspunsului inflamator care este implicat și în inducerea sintezei proteinelor de fază acută și în dezvoltarea febrei. O corelație marcată se remarcă între nivelul IL-6 și procesele inflamatorii. Niveluri înalte de IL-6 au fost observate și în serul pacienților cu șoc septic. Profilul citokinelor la pacienții cu peritonită studiați a arătat o creștere a citokinelor inflamatorii IL-6, IL-2 și a chemochinei IL-8. Imediat după intervenția chirurgicală valorile IL-6 au continuat să crească. Se admite că în primele 30-60 de minute după intervenția chirurgicală crește concentrația IL-6, a cărei valoare devine semnificativă după 2-4 ore TNF α a avut de asemenea valori semnificativ crescute în ser la cei cu peritonită bacteriană comparativ cu cei martor ($p < 0,005$). Nivelurile crescute ale IL-6, IL-8 și IL-10 s-au manifestat și înainte de debutul șocului septic, fapt semnalat și de alte publicații (8,9,10,11).

Evidențierea unor niveluri crescute ale citokinei antiinflamatorii IL-10 pare să explice implicarea acestei citokine în supresia sindromului de șoc septic, spre deosebire de cele scăzute care s-au corelat adesea cu o evoluție severă. Considerăm că a existat o comutare a limfocitelor Th1 spre Th2 la pacienții cu simptome clinice severe de peritonită. Comentând rezultatele de mai sus per global, apreciem că la debutul peritonitei s-a inițiat un răspuns mediat de citokine relevant care s-a menținut după intervenția chirurgicală. Este important de subliniat faptul că în cazul peritonitelor instalate postoperator, am identificat o persistență a valorilor de IL-6 (peste 480 pg/ml), CRP (peste 22 mg/l) și TNF α (peste 90 pg/ml) semnificativ crescute, chiar la un interval de peste 12 zile. Considerăm că dozarea acestor modulatori ai inflamației permite atât identificarea pacienților cu procese inflamatorii intraabdominale postoperatorii, cât și a celor cu o înaltă probabilitate de evoluție severă, conducând la abordarea unei terapii adecvate. Sugerăm că aceste valori persistente, constatate după o intervenție chirurgicală reflectă o stare inflamatorie și pot sugera o peritonită postoperatorie mult mai exact decât valorile considerate individual, înainte de intervenție. În peritonitele postoperatorii creșterea persistentă a IL-6, TNF α și CRP a reflectat cu mai multă acuratețe statusul inflamator. Monitorizarea concentrației acestor parametri este recomandată pentru detectarea timpurie a unor complicații severe postoperatorii (12). În prezent mulți autori și-au focalizat atenția pe importanța practică a folosirii citokinelor în diagnosticul inflamațiilor peritoneale. Pentru stabilirea diagnosticului precoce ei corelează aspectul clinic cu concentrațiile plasmatiche ale citokinelor care promovează

inflamația (7,13). Datele clinice semnalate în corelație cu alterarea biomarkerilor imuni studiați, de noi și de alți autori, trebuie să alerteze medicul chirurg în suspiciunea apariției de complicații septice postoperatorii intraabdominale, dezvoltate atât după intervenții clasice cât și laparoscopice. Totodată se oferă în acest mod, indicii asupra evoluției postoperatorii spre șoc septic sau vindecare. În funcție de durata și severitatea peritonitei, s-au detectat valori diferențiate ale componentei C3 a complementului. Am notat o ușoară creștere a C3 la debutul peritonitei. La o parte din pacienții cu peritonită bacteriană, nivelul plasmatic al C3 a fost semnificativ mai scăzut față de subiecții martor, la care valorile C3 s-au încadrat în intervalul 52-100 mg%. Infecția masivă cu bacterii poate cauza un consum pronunțat de componente ale complementului. Degradarea componentei C3 în exudatul intraabdominal, constituie un alt factor care poate explica deficiența în apărare a pacienților cu peritonite severe.

Concluzii

1. Ciokinele, molecule mici proteice cu rol de mesageri reprezintă importanți mediatori ai răspunsului imun și inflamator în peritonitele acute. Concentrațiile crescute în ser de IL-2, IL-6, TNF α și IL-8 confirmă activarea răspunsurilor mediat celular și inflamator înăscut, implicate în patogeneza peritonitei, iar cel al IL-10, pare să reflecte un proces de supresie a sindromului de șoc toxic, găsit la o parte din pacienți.
2. Nivelurile proteinei C reactive au fost crescute în mod special la pacienții cu sepsis, șoc septic reacții sistemice severe. Testul PCT îndeplinește condițiile necesare pentru a putea fi introdus în protocolul de urmărire în dinamică a evoluției clinice.

Bibliografie

1. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(3):396-402.
2. Seguin P, Chanavaz C, Malledant Y. Peritonites comunautaires. In: Malledant Y, Seguin P, editors. *Le point sur... Les infections intra-abdominales aiguës.* Paris: Ed. Springer; 2007. p. 51-60.
3. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest.* 1997;112(1):235-43.
4. Carvalho PRA, Trotta EA. Advances in sepsis diagnosis and treatment: sepsis, systemic inflammatory response syndrome, critical care. *Jornal de Pediatria.* 2003;79(Suppl 2):S195-S204.
5. Gattas DJ, Cook DG. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis: health technology assessment in the ICU. *J Crit Care.* 2003;18:52-8.
6. Guven H, Altintop L, Baydin A, Esen S, Aygun D, Hokelek M, et al. Diagnostic value of procalcitonin levels as an early indicator of sepsis. *Am J Emerg Med.* 2002;20(3):202-6.
7. Karamarkovic A, Radenkovic D, Milic N, Bumbasirevic V, Stefanovic B. Protein C as an early marker of severe septic complications in diffuse secondary peritonitis. *World J Surg.* 2005;29(6):759-65.

8. Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, Piddock LJ, Planas R, Bernard B, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club. *J Hepatol.* 2000;32(1):142-53.
9. Pettilä V, Hynninen M, Takkunen O, Kuusela P, Valtonen M. Predictive value of procalcitonin and interleukin 6 in critically ill patients with suspected sepsis. *Intensive Care Med.* 2002; 28(9):1220-5. Epub 2002 Jul 19.
10. Vasile I, Mogoș D, Păun I, Georgescu E, Florescu M. Sepsis - SIRS-MODS. *Analele Universității din Craiova, Seria Medicină.* 1998;5(2):199-204.
11. Vasile I, Mogoș D, Păun I, Marinescu S, Vilcea D, Nedelcuță C, et al. Sindroame septice postoperatorii cu patogenie particulară. *Chirurgia (Bucur).* 1999;94(6):493-8.
12. Selberg O, Hecker H, Martin M, Klos A, Bautsch W, Köhl J. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* 2000 Aug;28(8):2793-8.
13. O'Brien LA, Gupta A, Grinnell BW. Activated protein C and sepsis. *Front Biosci.* 2006;11:676-98.