

ПРОКАЛЬЦИТОНИН: НОВЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР СЕПСИСА И ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ В ХИРУРГИИ

Б.Р.Гельфанд, М.И.Филимонов, Т.Б.Бражник, Н.А.Сергеева, С.З.Бурневич

Часть I

Введение

Тяжелые инфекции и сепсис являются распространенными причинами заболеваемости и смертности в отделениях интенсивной терапии. Во всем мире наблюдается тенденция к неуклонному росту числа больных сепсисом и стабильно высокая летальность-30-70% [26, 60, 74, 80]. Одной из наиболее актуальных и сложных проблем неотложной хирургии и интенсивной терапии остается лечение деструктивных заболеваний органов брюшной полости и их гнойно-септических осложнений. В последние годы значительно увеличилось число больных с инфицированными формами пакреонекроза, прободением желудочно-кишечного тракта, травматическими повреждениями органов брюшной полости, перитонитом различной этиологии, летальность при этом мало изменилась в течение последнего десятилетия и составляет 19-70% [2,12]. Не вызывает сомнений тот факт, что высокая смертность от сепсиса во многом обусловлена его поздней диагностикой и неэффективным мониторингом проводимого лечения. С этих позиций особый интерес представляет поиск надежных маркеров системной воспалительной реакции.

К сожалению, классические клинические и лабораторные признаки системной воспалительной реакции, такие, как лихорадка, тахикардия, тахипноэ и лейкоцитоз, могут быть результатом неинфекционных причин и не являться ни специфичными, ни чувствительными для сепсиса, а большинство современных маркеров, например, концентрацию эндотоксина и цитокинов, невозможно использовать для рутинной диагностики. Клиническая картина, подобная сепсису, нередко наблюдается у пациентов с панкреатитом [77], тяжелой травмой [50], ожогами [73], лекарственной реакцией [22],

после обширных хирургических вмешательств [22] и даже при тяжелой сердечной недостаточности [22, 78]. Поэтому часто трудно дифференцировать пациентов с системной инфекцией и полиорганной недостаточностью или шоком от пациентов со сходными клинико-лабораторными признаками, но без инфекции [66]. Бактериологическое исследование может быть ложнопозитивным из-за контаминации биоматериала, а отрицательные результаты не исключают присутствие инфекции [66]. Частота выявления положительной гемокультуры у наиболее тяжелых пациентов не превышает 45% даже при точном соблюдении техники забора крови и использовании самых современных методов микробиологической диагностики [1, 32, 61]

Идеальный метод диагностики инфекции должен быть недорогим, несложным в выполнении, высокоспецифичным и чувствительным; должен способствовать ранней диагностике сепсиса, коррелировать с тяжестью процесса и помогать оценивать эффективность лечебных мероприятий [65]. Новые данные о патофизиологии и биохимии экспериментального сепсиса, включающие биологию цитокинов, иммуногенетику адгезивных молекул, взаимодействие моноцитов, лимфоцитов и нейтрофилов, апоптоз лимфоцитов и синтез прокальцитонина и неоптерина, позволили лучше понять патогенетические механизмы развития генерализованного инфекционного процесса. Изучено и предложено большое количество маркеров системной воспалительной реакции, но ни один из них не удовлетворяет требованиям «идеального» маркера.

Прокальцитонин: краткая история, биохимия, методика исследования, физиологические и патофизиологические свойства, клинические аспекты

В начале 1990-х годов французские исследователи из института G.Roussy изучали маркеры медуллярной карциномы щитовидной железы, в частности кальцитонин [13]. С этой целью были разработаны моноклональные антитела к компонентам кальцитонина, но в процессе работы была также получена серия антител к предшественнику кальцитонина - прокальцитонину и к его N и C-концевым участкам. Вследствие недостатка чистого прокальцитонина, необходимого для стандартизации исследований, использовался белок- PTN-47 , в состав которого входят два эпитопа, реагирующие с моноклональными антителами аналогично прокальцитонину. С помощью стандартизованного радиоиммунометрического метода были обследованы не только пациенты, страдающие раком щитовидной железы, но и другими злокачественными и незлокачественными заболеваниями. Наиболее высокий уровень прокальцитонина отмечался у больных мелкоклеточной карциномой легких, на основании чего выдвинуто предположение о том, что источником продукции прокальцитонина могут являться нейроэндокринные клетки легких. Результаты этой работы заинтересовали врачей Французской армии. Во время войны в Персидском заливе прокальцитонин использовался в качестве потенциального маркера тяжелого повреждения легких, вызванного вдыханием токсичных газов. При ретроспективном анализе полученных данных были установлены высокие концентрации прокальцитонина у ожоговых больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком. Это навело на мысль о взаимосвязи уровня прокальцитонина и сепсиса. Следующее исследование, проведенное среди пациентов педиатрического стационара, страдающих менингитом и другими тяжелыми инфекционными заболеваниями, подтвердило возникшую гипотезу: значимое увеличение концентрации прокальцитонина

наблюдалось при бактериальной инфекции. У пациентов с вирусной инфекцией уровень прокальцитонина оставался нормальным [8,13]. После публикации этих данных в журнале Lancet в 1993 г. [8] Dandonna P., и соавт. (США, 1994) исследовали прокальцитонин у добровольцев, которым проводилось болюсное введение бактериального эндотоксина с последующим измерением концентрации прокальцитонина и цитокинов через определенные промежутки времени. Отмечено увеличение концентрации прокальцитонина плазмы через 3 часа после инъекции, его уровень достигал плато через 6 часов и оставался повышенным до 24 часов [23]. Второе исследование было проведено профессором Smith и соавт. (Бангкок, 1995) на группе больных с мелиоидозом - тяжелым инфекционным заболеванием, вызываемым *Burgholderia pseudomallei*, отличающимся 50 % летальностью. У всех пациентов с концентрацией прокальцитонина более 100 нг/мл наступал летальный исход. У пациентов с менее тяжелым течением заболевания уровень прокальцитонина был ниже 100 нг/мл, а снижение его концентрации в динамике коррелировало с благоприятным исходом [76]. По инициативе профессора Davis (Австралия, 1994) исследовался уровень прокальцитонина у больных с тяжелой малярией. Предполагалось, что повышение концентрации прокальцитонина связано с низким уровнем кальция плазмы. Однако эта взаимосвязь не была установлена [24]. В 1996 году B·R·A·H·M·S Diagnostica GmbH (Германия) был предложен иммунолюметрический метод исследования (ILMA) концентрации прокальцитонина. Результаты исследований последних лет дают основания считать прокальцитонин наиболее перспективным индикатором сепсиса, его свойства позволяют проводить дифференциальную диагностику бактериального и небактериального воспаления, оценивать тяжесть состояния больного и эффективность проводимого лечения.[17, 65, 67].

Прокальцитонин-116 аминокислотный полипептид с молекулярной массой

12795 Д, предшественник гормона кальцитонина, в физиологических условиях синтезируется С-клетками щитовидной железы из препрокальцитонина под влиянием кальций-зависимых факторов [4]. В нормальной физиологии неизвестно никакой другой роли прокальцитонина, кроме как служить предшествующей молекулой для тиреоидной продукции кальцитонина. В результате специфического внутриклеточного протеолиза с участием прогормон-конвертазы, карбокси-пептидазы и аминопептидазы прокальцитонин расщепляется на кальцитонин, катакальцин и N- концевую группу прокальцитонина. Весь прокальцитонин метаболизируется указанным образом и не поступает в кровоток. Поэтому уровень прокальцитонина у здорового человека очень низок - менее 0,1 нг/мл [66]. В отличие от короткого периода полужизни кальцитонина (10 минут), прокальцитонин имеет более продолжительный период полужизни - приблизительно 22-35 часов в плазме крови [20, 43]. Известно, что увеличение концентрации прокальцитонина при инфекционных процессах не приводит к увеличению уровня или активности кальцитонина плазмы [8]. В плазме прокальцитонин химически стабилен и не превращается в кальцитонин.

Для определения концентрации прокальцитонина в плазме крови используется иммунолюминиметрический метод (LUMItest[®] PCT, B·R·A·H·M·S Diagnostica GmbH, Berlin, Germany) [39]. В основе метода лежит реакция двух высокоспецифичных моноклональных антител с двумя позициями молекулы прокальцитонина. (кальцитонином и катакальцином), при этом исключается перекрестное взаимодействие. Одно из антител имеет акридиновую люминесцентную метку (трейсер) и связывается с кальцитониновым фрагментом прокальцитонина, другое антитело фиксировано на стенке пробирки и реагирует с прокальцитонином в области катакальцина. В результате образуются надежно фиксированные к стенке пробирки комплексы антиген-антитело («сэндвич-комплексы»). После вымывания излишнего количества ре-

актива (антитела к прокальцитонину найдется в избытке) пробирки помещают в люминометр и добавляют раствор перекиси водорода и гидрохлорида натрия, которые, реагируя с меткой, вызывают ее свечение. Количество световых единиц прямо пропорционально концентрации прокальцитонина плазмы. Для проведения исследования необходимо 20 мкл плазмы, тест выполняется в течение 2 часов. Аналитическая чувствительность метода составляет 0,1 нг/мл, функциональная чувствительность примерно 0,3 нг/мл (внутренняя погрешность метода). Эффект высоких доз может влиять на точность измерения при концентрации прокальцитонина более 900 нг/мл. Прокальцитонин обладает рядом свойств, делающих его удобным для рутинного использования. Применение антимикробных химиопрепаратов, анальгетиков, антикоагулянтов, диуретиков, вазоактивных средств не влияет на концентрацию прокальцитонина [41]. Измерение концентрации прокальцитонина может проводиться в обычной лаборатории, оборудованной люминометром, так как прокальцитонин длительное время остается стабильным *in vitro* и не требует немедленного замораживания образцов плазмы. Концентрация прокальцитонина в венозной крови на 4% меньше, чем в артериальной, поэтому для исследования можно использовать как артериальную, так и венозную кровь [44].

Для экспресс-диагностики разработан полуколичественный иммунохроматографический метод определения концентрации прокальцитонина в плазме или сыворотке крови (B·R·A·H·M·S PCT-Q) [42]. В тесте используются мышиные моноклональные антитела к катакальцину, конъюгированные с коллоидным золотом (трейсер) и поликлональные бараньи антикальцитониновые антитела (твердая фаза). 200 мкл сыворотки или плазмы крови помещают в лунку полоски (стрипа) при комнатной температуре. Антитела к катакальцину связываются с прокальцитонином, образуя комплекс антиген - антитело-трейсер. В силу капиллярности этот комплекс распространяется по стрипу и в

зоне опытной полоски реагирует с твердой фазой - образуется «сэндвич-комплекс». Избыточный трейсер перемещается в зону контрольной полоски, где он связывается с образованием интенсивно окрашенной контрольной полоски - так проверяется работоспособность системы. Интенсивность окрашивания опытной полоски прямо пропор-

циональна концентрации прокальцитонина в образце. Сравнение окраски опытной полоски с референсным рядом эталонных полос позволяет установить приблизительную концентрацию прокальцитонина (в пределах <0.5 нг/мл; от 0.5 до 2 нг/мл; от 2 до 10 нг/мл; > 10 нг/мл) и сравнить ее со справочными значениями (таблица 1).

Таблица 1

Интерпретация результатов исследования концентрации прокальцитонина, полученных с помощью экспресс-метода по М. Meisner (2000 г.)

Группы	ПКТ, нг/мл
Здоровые люди	< 0,5 нг/мл
Хронические воспалительные процессы и аутоиммунные болезни	< 0,5 нг/мл
Вирусные инфекции	< 0,5 нг/мл
Локальные бактериальные инфекции	< 0,5 нг/мл
ССВР, множественная травма, ожоги	0,5-2,0 нг/мл
Тяжелые бактериальные инфекции, сепсис, полиорганная недостаточность	> 2,0 (обычно 10-100)

Результаты теста коррелируют с результатами, полученными при использовании точного количественного метода. В·R·А·Н·M·S PCT-Q тест прост в выполнении, не требует специального оборудования и участия обученного персонала. Высокие концентрации прокальцитонина в образце (до 4000 нг/мл), присутствие билирубина и липидов не влияют на результат теста. Примесь гемоглобина более 5 г/л влияет на результат исследования, возможны также индивидуальные особенности оценки цвета опытной полоски и стандарта.

Патофизиологические аспекты регуляции синтеза прокальцитонина при сепсисе изучены недостаточно. Не установлено точное место продукции прокальцитонина. Ген CALC-I является возможным регулятором образования прокальцитонина при системных воспалительных процессах. Но, вероятнее всего, выработка прокальцитонина более сложна и контролируется еще одним или несколькими генами. Об этом свидетельствуют тот факт, что у пациентов с предшествующей тотальной тиреоидэктомией обнаружено увеличение концентрации прокальцитонина при сепсисе [8, 53].

Установлено, что главными и наиболее сильными стимуляторами продукции и выхода прокальцитонина в системный кровоток являются бактериальные тела и эндотоксины. Грам-положительные инфекции также стимулируют продукцию прокальцитонина [67]. Исследование концентрации прокальцитонина среди здоровых добровольцев, которым проводилось внутривенное введение эндотоксина *Escherichia coli* [23], показало, что уровень прокальцитонина, не обнаруживаемый исходно, начинал повышаться уже через 2 часа после инъекции, быстро увеличивался в течение 6-8 часов и достигал максимального плато к 12 часам. В следующие 2-3 дня концентрация прокальцитонина снижалась до нормы. Уровень ФНО- α и IL-6 достигал пиковых значений через 2-3 часа после инъекции и не обнаруживался через 24 часа. Повторные введения эндотоксина *Salmonella abortus equi* (через 24 и 48 часов после первой инъекции) не вызывали дальнейшего увеличения концентрации прокальцитонина и не предотвращали ее снижения на 3-и сутки, что связывают с ослаблением регулирующего

влияния ФНО- α при повторных инъекциях эндотоксина [23]. Аналогичная динамика продемонстрирована в уникальном случае септического шока у человека [15]. Гемодиализат крови телят, зараженной *Acinetobacter baumannii*, случайно был введен 76-летнему пациенту, что в течение нескольких часов привело к развитию септического шока. Прокальцитонин плазмы начал обнаруживаться через 3 часа после инъекции, достиг пика 300 нг/мл через 14 часов и оставался повышенным в течение 24 часов. Увеличение концентрации ФНО- α наступило через 1,5 часа, пик - через 3 часа. Эти факты не только подтверждают существование эндотоксинстимулированной выработки прокальцитонина, но и показывают, что увеличение концентрации прокальцитонина наступает через короткое время после пикового повышения уровня цитокинов. Отличия в периодах полужизни прокальцитонина и цитокинов объясняют эту закономерность. Согласно другому предположению, высвобождение цитокинов после воздействия эндотоксина может самостоятельно индуцировать продукцию прокальцитонина. Хотя точный механизм, лежащий в основе стимуляции прокальцитонина при сепсисе не ясен, полученные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи продукции прокальцитонина с продукцией провоспалительных цитокинов. Быстрое увеличение концентрации прокальцитонина, ФНО- α и ИЛ-6 наблюдалось у больных раком почки после внутривенного введения ИЛ-2 [8]. Интересные сведения получены при построении экспериментальной модели сепсиса у лабораторных животных. В работе Nylen и соавт. [56] приводятся данные о высвобождении прокальцитонина на примере модели сепсиса у хомяка. Обнаружено, что назначение прокальцитонина снижает выживаемость, а инфузия антител, нейтрализующих прокальцитонин, приводит к изменению септического ответа и увеличивает выживаемость. Redl H. и соавт. [64] с целью исследования продукции прокальцитонина, ИЛ-6, ФНО- α и неоптерина при различных патофизиологических состояниях использовали модели геморрагико-травматического и септического шока у нечеловекообразных приматов (бабуинов). Важным отличием этого эксперимента от других исследований было то, что после инфузии живой *Escherichia coli* достигались максимальные уровни прокальцитонина. Полученные уровни прокальцитонина были ниже, чем у септических пациентов, несмотря на то, что у бабуинов развивался более тяжелый сепсис с типичной 6-дневной смертностью в пределах 50-75% [75], но кинетика концентрации прокальцитонина, ИЛ-6 и ФНО- α была сходной с описанной ранее у добровольцев, получавших малые дозы эндотоксина. Уровень прокальцитонина при септическом шоке был значительно выше, чем у животных с геморрагическим шоком.

В настоящее время источник синтеза прокальцитонина при тяжелых инфекциях не установлен. При моделировании сепсиса на лабораторных хомяках мРНК прокальцитонина обнаружена во многих органах и тканях [55]. Нейроэндокринные клетки, продуцирующие прокальцитонин, обнаружены в легких, кишечнике, печени [8, 10, 21, 52, 54]. Oberhoffer M., и соавт. впервые выявили *in vitro* экспрессию прокальцитонина в мононуклеарных клетках периферической крови человека [59]. С помощью обратной транскриптазо-полимеразной цепной реакции и поточного цитометрического анализа с внутриклеточным окрашиванием и антителами к катакальцину и кальцитонину было продемонстрировано, что экспрессия прокальцитонина в мононуклеарах происходит как на уровне мРНК, так и на уровне белков. Липополисахарид *E. Coli* В₄, *Salmonella abortus equi* и провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α) стимулируют экспрессию мРНК прокальцитонина и вызывают увеличение внутриклеточного содержания компонентов прокальцитонина, а противовоспалительный цитокин ИЛ-10 такими свойствами не обладает. Наиболее сильный индуцирующий эффект оказывал липополисахарид *E. Coli* В₄ и ФНО- α . Выявлен синтез прокальцитонина в макрофагах [68], гранулоцитах, В- и Т-лимфоцитах [11], моноцитах [72].

В реальных клинических условиях динамика концентрации прокальцитонина отличается от таковой, наблюдаемой в эксперименте, и во многом зависит от состояния иммунной

системы, степени активности системной воспалительной реакции, локализации и масштаба воспалительного процесса. Медленное и прогрессирующее увеличение концентрации прокальцитонина свидетельствует о дальнейшем развитии инфекционного процесса и неблагоприятном прогнозе [40]. И напротив, снижение его концентрации в соответствии с периодом полужизни 22-35 часов отражает уменьшение выраженности воспалительного ответа. Увеличение концентрации прокальцитонина плазмы происходит при тяжелых генерализованных бактериальных, паразитарных и грибковых инфекциях с системными проявлениями [66]. Уровень прокальцитонина может возрастать в сотни и тысячи раз и достигать 100 нг/мл, а в отдельных случаях более 1000 нг/мл [8, 15, 37]. Самый высокий уровень прокальцитонина описан у больного с пневмонией и сепсисом – 5420 нг/мл [33]. Концентрация прокальцитонина не возрастает или возрастает в малой степени при тяжелых вирусных инфекциях или воспалительной реакции неинфекционной природы [8]. Доказано, что прокальцитонин не определяется или его уровень очень низок при пневмонии (в среднем- 0,2 нг/мл, 0,1-6,7 нг/мл, n=149) и чрезвычайно высок при пневмонии и сепсисе (31 нг/мл, 0,5-5420 нг/мл), [33]. В другом исследовании средние значения составили 2,4 нг/мл при пневмонии и 31 нг/мл - у пациентов с пневмонией и сепсисом [25]. Прокальцитонин не является маркером инфекции как таковой, поскольку при локализованных инфекциях и инфекциях без системных проявлений концентрация прокальцитонина увеличивается незначительно [70]. Показатели прокальцитонина могут увеличиваться и у пациентов с системной воспалительной реакцией неинфекционного генеза, развивающейся после тяжелой травмы, обширных хирургических вмешательств [25, 45, 49], кардиогенным шоком [19], ожогов, теплового удара [9, 79], в условиях искусственного кровообращения [48]. Однако, как правило, увеличение уровня прокальцитонина, наблюдаемое при этих состояниях, не бывает таким выраженным, как при сепсисе, и часто носит преходящий характер. В таких ситуациях последующие ежедневные измерения более информативны, чем использование одиночных значений. Предполагается, что увеличение концентрации прокальцитонина при перечисленных состояниях обусловлено транслокацией бактерий или бактериальных продуктов вследствие гипоперфузии слизистой оболочки кишечника. В недавних исследованиях Brunkhorst F.M. [18] и Niebauer J. [51] продемонстрировано, что у больных с хронической сердечной недостаточностью наблюдается эндотоксемия и активация иммунной системы в результате застойного венозного мезентериального полнокровия, гипоперфузии слизистой кишечника и транслокации бактерий в кровоток. Наконец, уровень прокальцитонина может возрастать у пациентов с С – клеточной карциномой щитовидной железы [14] и мелкоклеточной карциномой легких [21] без сопутствующей инфекции.

Важным аспектом практического применения прокальцитонина является идентификация инфекционных и неинфекционных причин системной воспалительной реакции. В литературе описаны следующие ситуации, когда прокальцитонин позволял проводить дифференциальную диагностику системной воспалительной реакции:

- дифференцирование стерильного и инфицированного панкреонекроза [63], определение тяжести острого панкреатита и прогнозирование ранней полиорганной недостаточности [38];
- дифференцирование септического и несептического острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [16];
- дифференцирование вирусных и бактериальных инфекций [29];
- дифференцирование системных бактериальных и грибковых инфекций от реакции отторжения трансплантата у больных, перенесших трансплантацию печени [31], почки [27] и сердца [27].

- дифференцирование изолированной ВИЧ-инфекции и ВИЧ-инфекции в сочетании с бактериальным сепсисом [30];
- дифференцирование фебрильной нейтропении у иммунокомпроментированных больных и сепсиса [6, 28, 71];
- дифференцирование тяжелых бактериальных инфекций от других патологических процессов, сопровождающихся сходной клинической картиной (лихорадка неясного генеза, «псевдосепсис», множественные травмы и ожоги, обширные операции и др.) [42].

Прокальцитонин обладает широким динамическим концентрационным диапазоном - (от $<0,5$ нг/мл до < 500 нг/мл) [30]. Это свойство обуславливает возможность увеличения концентрации прокальцитонина по мере прогрессирования инфекции и полиорганной недостаточности, что подтверждается корреляцией оценки тяжести состояния и выраженности полиорганной дисфункции, характеризуемыми с помощью систем - шкал APACHE II и SOFA, и концентрации прокальцитонина [46, 47]. Взаимосвязь существенного увеличения концентрации прокальцитонина, тяжести системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности установлена и в других исследованиях [5, 25]. Концентрации прокальцитонина, превышающие 10 нг/мл наблюдаются почти исключительно у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком [7, 34].

Результаты некоторых клинических исследований демонстрируют высокое прогностическое значение прокальцитонина в отношении исхода заболевания. У ожоговых пациентов и у пациентов с РДСВ увеличение или стойкое повышение концентрации прокальцитонина являлось предиктором летального исхода с чувствительностью 84% и специфичностью 91% [35, 36]. Такие же показатели чувствительности и специфичности получены Reith Н.В. и соавт. при исследовании 246 больных с абдоминальным сепсисом. Выявлены значительные различия в концентрации прокальцитонина среди выживших и умерших больных при поступлении в больницу, на 1, 4 день, на день смерти или выздоровления. У 59 умерших больных исходный уровень прокальцитонина составлял в среднем 4,2 нг/мл с возрастанием до 13,2 нг/мл на момент смерти. У 187 выживших больных исходный уровень прокальцитонина плазмы составлял 2,1 нг/мл с дальнейшим снижением до 0,4 нг/мл [69]. Сходные результаты были получены при обследовании больных с деструктивным панкреатитом. У пациентов с фатальным течением инфицированного панкреонекроза отмечался более высокий средний уровень предоперационной концентрации прокальцитонина в сравнении с выздоровевшими. В течение первых 3-х суток у всех выживших больных уровень прокальцитонина возвращался к норме, в то время как у умерших продолжал оставаться высоким [63].

Одним из перспективных направлений в лечении сепсиса является иммуномодуляторная терапия. Однако применение новых иммуномодуляторных препаратов до настоящего времени не имело успеха. Неудачи, вероятнее всего, обусловлены недостаточной иммунологической оценкой пациентов [58], отсутствием возможности адекватного мониторинга тяжести системной воспалительной реакции [66]. Как для лечения конкретного больного, так и для критериев включения в исследование, необходимо иметь объективные маркеры, отражающие выраженность цитокинового ответа при сепсисе. Предполагается, что таким маркером может быть прокальцитонин [57], но для уточнения этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

Часть II

Исследование концентрации прокальцитонина при хирургических инфекциях

В этой части лекции обобщен собственный опыт исследования концентрации прокальцитонина у больных, которые находились на лечении в клинике факультетской хирургии им. С.И. Спасокукоцкого с октября 2000 г. по март 2002 г. Определение концентрации прокальцитонина проведено с использованием реактивов LUMItest® PCT и PCT-Q-теста

(B·R·A·H·M·S Diagnostica GmbH, Berlin, Germany) у больных с деструктивным панкреатитом, абдоминальным сепсисом (вторичным перитонитом различного генеза) и больных с «трудным» диагнозом, которые поступали в клинику с лихорадкой неясного генеза, подозрением на сепсис. Уровни люминесценции измеряли на полуавтоматическом хемилюминесцентном анализаторе Magic® Lite II фирмы Ciba Corning (Англия).

Деструктивный панкреатит

Инфицированные формы панкреонекроза и связанная с ними выраженная системная воспалительная реакция являются определяющими факторами эволюции деструктивного панкреатита. Как показывают клинические и лабораторные наблюдения, деструктивный панкреатит сопровождается развитием системной воспалительной реакции даже при отсутствии инфекции, а традиционно используемые показатели воспаления недостаточно чувствительны и специфичны для диагностики панкреатогенной инфекции. Ранняя диагностика инфекционных осложнений деструктивного панкреатита часто бывает затруднена и вместе с тем наличие инфицированного панкреонекроза является абсолютным показанием к оперативному лечению независимо от степени выраженности полиорганной недостаточности. Именно эти причины делают актуальным поиск чувствительного и специфичного маркера генерализованной инфекции.

Нами выявлены значительные изменения концентрации прокальцитонина у больных с инфицированным панкреонекрозом. Средний уровень прокальцитонина у этих наиболее тяжелых больных был существенно выше, чем при стерильном панкреонекрозе.

В таблице 2 представлена клиническая стратификация синдрома системной воспалительной реакции и соответствующие средние значения концентрации прокальцитонина при деструктивном панкреатите. Степень увеличения концентрации прокальцитонина отражала тяжесть системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности у больных с инфицированным панкреонекрозом. Течение стерильного процесса не сопровождалось значимым изменением уровней прокальцитонина даже при развитии «ранней» полиорганной недостаточности и панкреатогенного шока.

Таблица 2

Концентрация прокальцитонина (PCT) плазмы у больных с деструктивным панкреатитом ($X \pm S_x$)

Стерильный панкреонекроз		Инфицированный панкреонекроз	
Синдром	PCT, нг/мл	Синдром	PCT, нг/мл
ССВР-3	0,29±0,04	ССВР-3	0,52±0,07
ССВР-4	0,78±0,14	ССВР-4	1,56±0,17
СПОН	0,59±0,06	Тяжелый сепсис	2,53±0,32
Панкреатогенный шок	0,87±0,12	Септический шок	8,44±2,47

Таблица 3

Прокальцитонин плазмы и тяжесть состояния больных деструктивным панкреатитом ($X \pm S_x$)

Оценка тяжести состояния по шкалам	Стерильный панкреонекроз (n=20)	Инфицированный панкреонекроз (n=16)
APACHE II	8,64±0,37	14,06±0,78*
SOFA	2,85±0,22	5,89±0,31*
Ranson, при поступлении	1,16±0,17	2,46±0,28*
Ranson, через 48 часов	3,11±0,4	5,2±0,52*
Glasgow	2,58±0,16	3,73±0,33*
PCT, нг/мл	0,42±0,04	2,63±0,31*

Примечание: *- достоверность различий между группами ($p < 0,05$)

Полученные результаты свидетельствуют о более выраженной системной воспалительной реакции при инфицированных формах панкреонекроза в сравнении со стерильным. Этот факт подтверждается как показателями интегральных систем-шкал APACHE II и SOFA, используемых для оценки тяжести состояния и выраженности полиорганной дисфункции, так и специальными шкалами Ranson и Glasgow, применяемыми для оценки тяжести и прогноза острого панкреатита. Достоверное увеличение концентрации прокальцитонина при инфицированном панкреонекрозе логично согласуется с показателями интегральных шкал (таблица 3). Установлена достаточно сильная и прямая корреляция между показателями APACHE II, SOFA и прокальцитонина. Особенно сильная корреляционная зависимость обнаружена между показателями прокальцитонина и SOFA у больных с инфицированным панкреонекрозом [3]. На диаграммах 1 и 2 продемонстрирована зависимость концентрации прокальцитонина от тяжести состояния и степени полиорганной недостаточности. В большинстве случаев наиболее высоким значениям прокальцитонина соответствовали максимальные показатели APACHE II и SOFA, что свидетельствует о широком динамическом концентрационном диапазоне этого маркера.

Представляется интересной динамика изменения концентрации прокальцитонина у больных деструктивным панкреатитом (график 1).

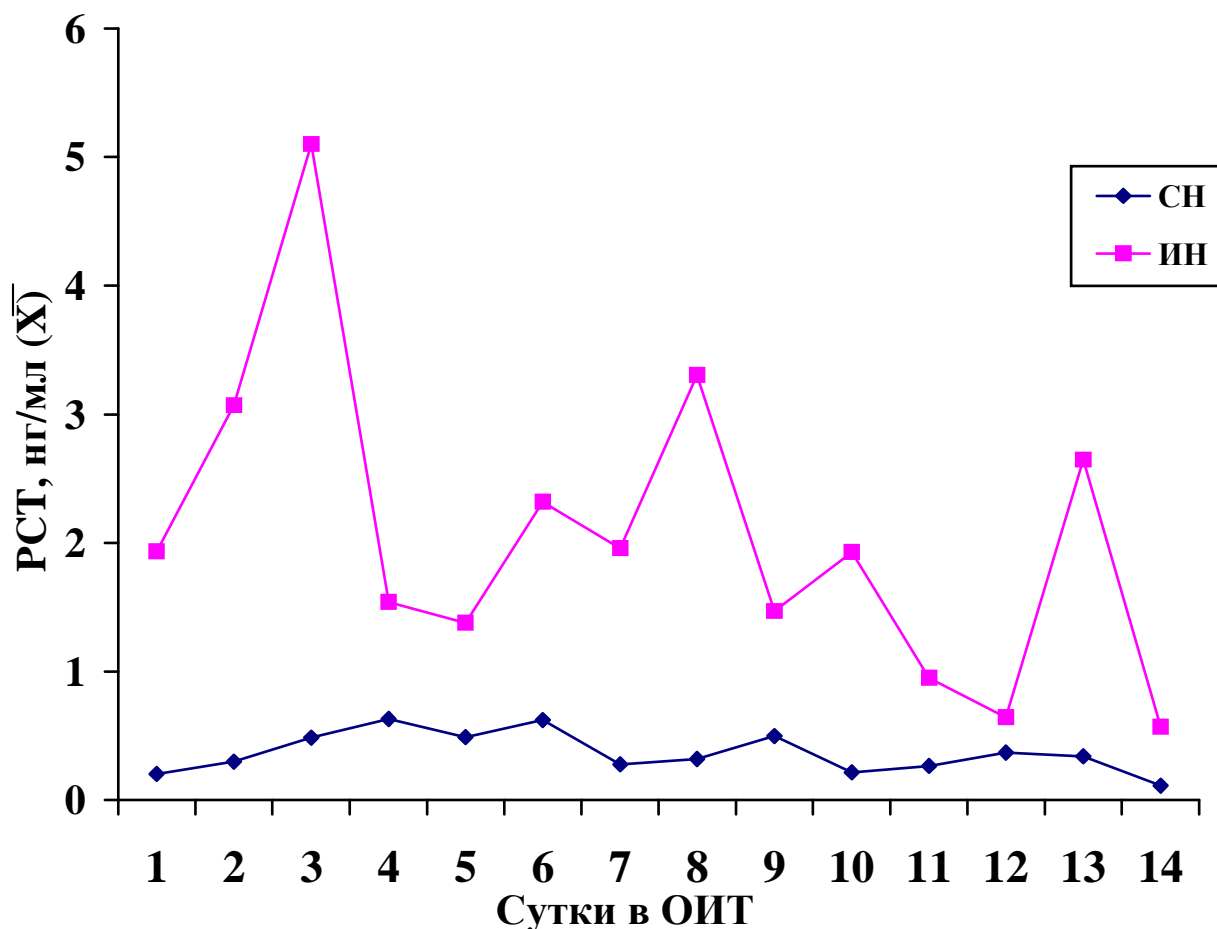


Рис 1 Прокальцитонин плазмы у больных с деструктивным панкреатитом.

При инфицированном панкреонекрозе максимальные уровни прокальцитонина наблюдались до оперативного вмешательства ($3,63 \pm 1,19$ нг/мл; 0,212-22,721 нг/мл) и в первые 4-5 суток послеоперационного периода ($2,87 \pm 0,64$ нг/мл; 0,117-21,82 нг/мл). Нормализация показателей происходила, как правило, к 12-14 суткам, но при условии разрешения инфекционного процесса. Увеличение концентрации прокальцитонина никогда не было связано непосредственно с хирургической травмой. У двух больных со стерильным процессом, оперированных в ранние сроки в связи с прогрессирующей полиорганной недостаточностью, не выявлены изменения концентрации прокальцитонина даже после такого обширного хирургического вмешательства, как бисубкостальная лапаротомия, абдоминализация поджелудочной железы, некрэтомия, лапаростомия. Отсутствие значимого повышения его концентрации после обширных операций по поводу панкреонекроза, подтверждает важную клинико-диагностическую характеристику прокальцитонина – существенное увеличение концентрации прокальцитонина происходит только при генерализованной бактериальной инфекции. С другой стороны, наблюдаемое нами быстрое снижение концентрации прокальцитонина вслед за адекватным оперативным вмешательством позволяет предполагать его использование в качестве точного параметра полноценности некрэтомии и этапных санаций брюшинного пространства и брюшной полости. При стерильном панкреонекрозе изменения концентрации прокальцитонина носили волнообразный характер со значениями, близкими к норме.

Общепризнанным «золотым стандартом» в диагностике инфекционных осложнений деструктивного панкреатита является контролируемая компьютерной томографией или ультразвуком тонкоигольная аспирация с последующим микробиологическим исследованием пункционного материала. Ее чувствительность и специфичность достигают 91% и 79% соответственно [62,63]. По нашим данным, чувствительность и специфичность прокальцитонина в прогнозировании развития инфицированных форм панкреонекроза превосходила классические клиничко-лабораторные признаки, составляющие симптомокомплекс сепсиса (температуру тела, количество лейкоцитов крови, лейкоцитарный индекс интоксикации), (таблица 4).

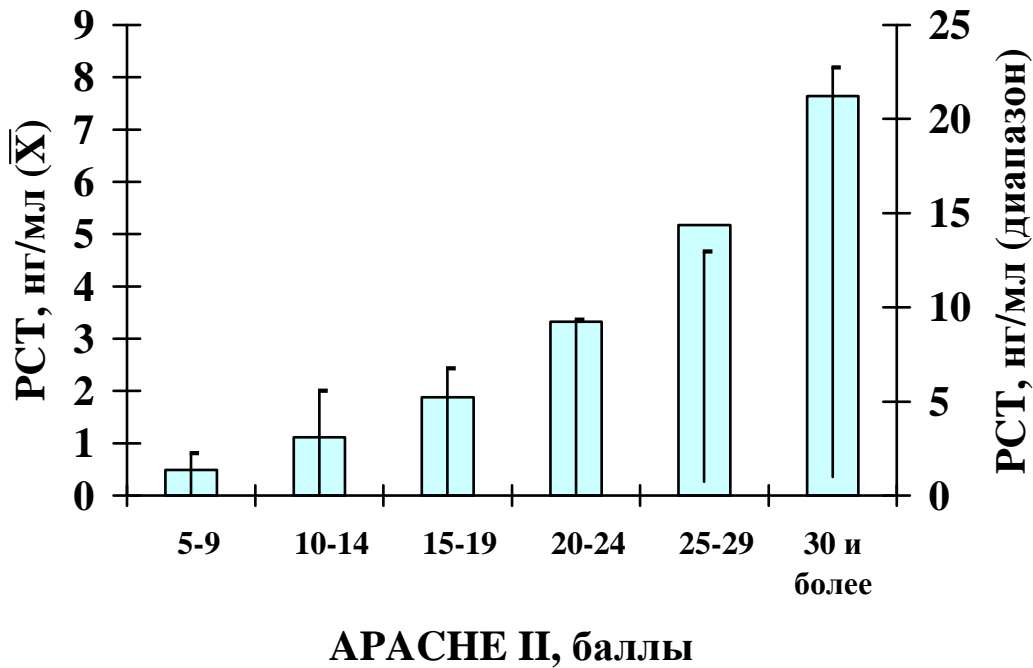


Рис.2 Концентрация прокальцитонина плазмы в зависимости от тяжести состояния больных панкреонекрозом по АРАСНЕ II

Таблица 4

Сравнение чувствительности и специфичности различных показателей системной воспалительной реакции

Группы больных	Показатели, %		Критерии
	чувствительность	специфичность	
Прокальцитонин			> 0,5 нг/мл
СН	57,8	87,6	
ИН	85,2	84	
Температура тела			< 36°С > 38°С
СН	42,3	63,3	
ИН	57,8	72,1	

Лейкоциты крови			< 4·10 ⁹ /л, > 12·10 ⁹ /л или 10 % незрелых форм
СН	31	72,8	
ИН	44,5	75,1	
Лейкоцитарный индекс интоксикации			>1,53 ед.
СН	74,7	36,1	
ИН	83	53,2	

Примечание: оценку чувствительности и специфичности проводили с учетом соответствующих критериев на основании наличия или отсутствия системной воспалительной реакции. СН-стерильный панкреонекроз; ИН-инфицированный панкреонекроз.

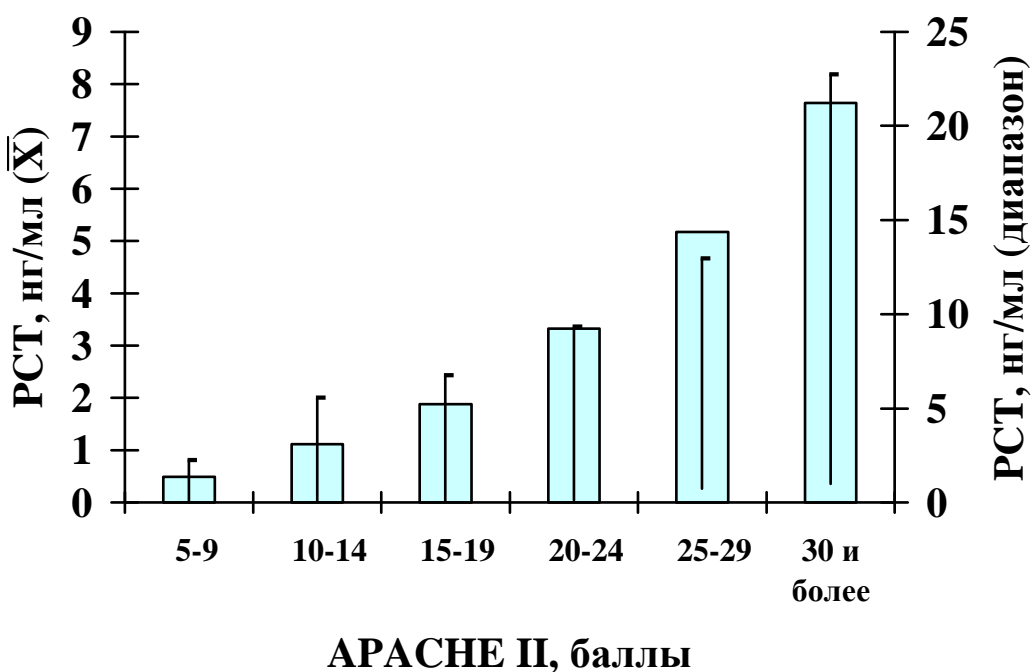


Рис. 3 Концентрация прокальцитонина плазмы в зависимости от тяжести состояния больных панкреонекрозом по АРАСНЕ II

Чувствительность теста была максимальной, если дважды в течение суток выявляли высокие уровни ПКТ – более 2,0 нг/мл при норме менее 0,5 нг/мл. Пороговым уровнем, подтверждающим факт инфицирования некроза ткани поджелудочной железы и брюшинной клетчатки с чувствительностью 84,7% и специфичностью 94%, была концентрация ПКТ более 2,0 нг/мл. Таким образом, прокальцитонин тест не только не уступает в точности методу диагностических пункций, но отличается скоростью, малой инвазивностью, безопасностью, простотой в выполнении и не требует участия специального персонала и сложного

оборудования. Кроме того, с помощью прокальцитонина можно ориентировочно оценить масштаб поражения поджелудочной железы и окружающих тканей - у больных с распространенным инфекционным процессом концентрация ПКТ достоверно выше, чем у больных с отграниченным инфекционным очагом [3]. Концентрация прокальцитонина при распространенном стерильном панкреонекрозе существенно превышала его значения в сравнении с ограниченным некротическим процессом – $0,866 \pm 0,256$ нг/мл и $0,364 \pm 0,269$ нг/мл соответственно, ($p < 0,05$).

Свойства прокальцитонина как предиктора летального исхода изучены недостаточно, в настоящее время не установлены какие-либо уровни, позволяющие предполагать летальный исход, однако мы наблюдали достоверно более высокие средние концентрации прокальцитонина у умерших больных с инфицированным панкреонекрозом в сравнении с выздоровевшими – $2,69 \pm 0,5$ нг/мл и $1,56 \pm 0,41$ нг/мл соответственно ($p < 0,05$).

Абдоминальный сепсис

Значительные изменения концентрации прокальцитонина со сходной динамикой отмечены среди небольшой группы больных с тяжелым вторичным (непанкреатогенным) перитонитом. У этой категории больных выявлена наиболее высокая средняя концентрация прокальцитонина – $8,77$ нг/мл. Показатели APACHE II и SOFA составили $16,3 \pm 2,7$ и $5,7 \pm 1,4$ баллов соответственно.

«Трудный диагноз»

Исследование концентрации прокальцитонина оказалось полезным не только у больных с деструктивным панкреатитом, но и в ряде других сложных клинических ситуаций, общей характеристикой которых было наличие выраженной системной воспалительной реакции неясной этиологии и отсутствие явного очага инфекции. Этот факт убедительно подтверждают несколько типичных случаев «трудного диагноза», которые мы сочли возможным привести в этой статье.

У больной 29 лет с предварительным диагнозом «сепсис» антибактериальная терапия оказалась неэффективной, при исследовании прокальцитонина в динамике не обнаружено увеличение его концентрации, заподозрена нейроинфекция, в дальнейшем установлен диагноз вирусного серозного менингита.

Больной 49 лет с тяжелой электротравмой, ожогами IV степени правой верхней и правой нижней конечностей, шоком, кровотечением, состоянием после ампутации верхней трети правого плеча и нижней трети правого бедра, остановки кровотечения, сепсисом. Мониторинг концентрации прокальцитонина, критическое увеличение его уровней в динамике ($9,99 - 18,7 - 28,94$ нг/мл) способствовали ранней диагностике сепсиса.

У больного, страдающего тромбозом правой большой подкожной вены, флотирующим тромбозом левой общей бедренной вены, тромбозом правой подключичной вены, язвенной болезнью, осложнившейся желудочно-кишечным кровотечением, был заподозрен ангиогенный сепсис. Определение концентрации прокальцитонина ($7,721$ нг/мл) способствовало ранней верификации сепсиса, задолго до бактериологического подтверждения инфекции (*Staph. aureus*).

Трагичный случай развития инфекционно-токсического шока у больной 60 лет. На 2-е сутки после плановой операции – экстирпации матки, в первые часы после релапаротомии, ушивания культи влагалища, остановки кровотечения развился инфекционно-токсический шок. Тяжесть состояния по APACHE II - 42 балла, по SOFA – 21 балл. Обнаружена самая высокая концентрация прокальцитонина, которую мы наблюдали – $254,16$ нг/мл, при повторном определении – $31,59$ нг/мл, что позволило подтвердить предположение об инфекционной природе шока.

У больной 25 лет послеродовой период осложнился неокклюзивным тромбозом нижней полой вены. Был имплантирован кава-фильтр. Не смотря на проводимое лечение, состояние не улучшалось. Сохранялись признаки системной воспалительной реакции, предполагался послеродовой сепсис. При ежедневном определении уровня прокальцитонина (0,14-0,94 нг/мл) не обнаружены его «септические» концентрации. Это послужило одним из факторов, позволивших воздержаться от экстирпации матки. Больная выздоровела.

Больная 19 лет поступила в стационар с лихорадкой неясного генеза, подозрением на сепсис. Проводимая антибактериальная терапия была неэффективной, что вызвало сомнения относительно правильности диагноза. При двукратном исследовании прокальцитонина получены его нормальные значения - менее 0,5 нг/мл. В результате дальнейшего диагностического поиска установлен диагноз- синдром Стилла- вариант ревматоидного артрита, характеризующийся высокой лихорадкой, артралгией, миокардитом, перикардитом, лимфаденопатией, спленомегалией, кожной сыпью.

Заключение:

Мы далеки от мысли считать какой-либо лабораторный показатель приматом диагностики такого сложного патологического процесса, каким является сепсис. Подавляющее большинство данных, особенно первоначальных, связаны с клиническими исследованиями, в то время как фундаментальные аспекты прокальцитонина остаются неразрешенными. Несмотря на практическую значимость применения прокальцитонина, многое в поведении этого маркера остается неясным, в частности окончательно не выявлены механизмы и локусы индукции этого прогормона, полностью не установлены взаимосвязи прокальцитонина с другими биохимическими сдвигами в организме больного. Тем не менее, наш опыт позволяет считать прокальцитонин высокочувствительным и специфичным маркером системной воспалительной реакции, с помощью которого возможна ее дифференциальная диагностика (в том числе экспресс-диагностика), оценка тяжести состояния больного и мониторинг эффективности терапии в реальном промежутке времени. Практическое значение определения концентрации прокальцитонина в хирургии, на наш взгляд, состоит в следующем:

- дифференциальная диагностика стерильного и инфицированных форм панкреонекроза;
- определение показаний к релапаротомии (при ведении больных в режиме «по требованию»);
- дифференциальная диагностика «псевдосепсиса» и синдрома лихорадки неясного генеза;
- дифференциальная диагностика инфекционного и неинфекционного ОРДС;
- определение показаний к высокочувствительным методам лечения (антибиотики, экстракорпоральные методы);

Литература

1. Руднов В.А. Сепсис: современный взгляд на проблему. // Клиническая антимикробная химиотерапия. - 2000.- № 1.- С.2-7.
2. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. Инфекция в абдоминальной хирургии: настоящее и будущее проблемы// Вестник хирургии.-1990.- № 6.-С. 3-7.
3. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Филимонов М.И., Бурневич С.З., Сергеева Н.А., Бражник Т.Б., Саганов В.П. Роль прокальцитонинового теста в диагностике и оценке тяжести инфицированных форм панкреонекроза. // Анналы хирургии- 2001; 4:44-49.
4. Adema G.J., Baas P.D. A novel calcitonin-encoding mRNA is produced by alternative processing of calcitonin/calcitonin gene related peptide-I pre mRNA. // J. Biol. Chem. 1992. 267 (11): 7943-7948.
5. Al-Nawas B., Kramer I., Shah P.M. Procalcitonin in diagnosis of severe infections. Eur. J. Med. Res. 1996; 1: 331-333.
6. Al-Nawas B., Shah P.M. Procalcitonin in patients with and without immunosuppression and sepsis. // Infection 1996; 24: 434-436.
7. Aouifi A., Piriou V., Bastien O., Blanc P., Bouvier H., Evans R., Celard M., Vandenesch F., Rousson R., Lehot J. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients // Crit. Care Med. 2000; 28(9): 3171-3176.
8. Assicot M., Gendrel D. et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. // Lancet . 1993. 341: 515-518.
9. Becker K.L., Nysten E., Arifi A.A. et al. Effect of classic heatstroke on serum procalcitonin. // Crit. Care Med. 1997; 25: 1362-1365.
10. Becker K.L., O'Neill W.J., Snider R.H., Nysten E.S., Moore C.F., Jeng J., Silva O.L., Lewis M.S., Jordan M.H. Hypercalcitonemia in inhalation burn injury: a response of the pulmonary neuroendocrine cell? // Anatomic Record 1993. 236: 136-138.
11. Bistrian B.R. Acute phase proteins and the systemic inflammatory response. // Crit. Care Med. 1999; 27 (3): 452-453.
12. Bobnen J.M.A. Intra-abdominal sepsis. 1998; P. 431-440.
13. Bohuon C. A brief history of procalcitonin. // Intensive Care Med. 2000. 26 (S2): 146-147.
14. Born W., Berlinger C., Fisher J.A. Diagnostic relevance of the amino-terminal cleavage peptide of procalcitonin (PAS-57), calcitonin and calcitonin gene-related peptide in medullary thyroid carcinoma patients. // Regul. Pept. 32: 311-319.

15. Brunkhorst F.M. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. // *Intensive Care Med.* 1998; 24: 888-889.
16. Brunkhorst F.M., Eberhard O.K., Brunkhorst R. Discrimination of infectious and noninfectious causes of early respiratory distress syndrome by procalcitonin. // *Crit. Care Med.* 1999; 27(10): 2172-2176.
17. Brunkhorst F.M., Wegscheider K. et al. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. // *Intensive Care Med.* 2000. 26: S 148 –S 152.
18. Brunkhorst FM. Endotoxins in chronic heart failure. // *Lancet.* 1999; 354: 599-600.
19. Brunkhorst F.M., Clark A.L., Forycki Z.F., Anker S.D. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. // *Int. J. Cardiol.* 1999;72:3-10.
20. Burns D. M., Howard G.A. et al. An assessment of anabolic skeletal actions of the common-region peptides derived from the CGRP and calcitonin prohormones. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1992; 657: 50-62.
21. Cate C.C., Petengill O.S., Sorenson G.D. Biosynthesis of procalcitonin in small cell carcinoma of the lung. // *Cancer Res.* 1986; 46: 812-818.
22. Cheval C., Timsit J.F. et al. Procalcitonin (PCT) is useful in predicting the bacterial origin of acute circulatory failure in critically ill patient. // *Intensive Care Med.* 2000.26: S 153-S 158.
23. Dandona P., Nix P. et al. Procalcitonin increase after endotoxine injection in normal subjects. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994; 79 (6): 1605-1608.
24. Davis T.M.E., Assicot M. et al. Serum procalcitonin concentrations in acute malaria. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1994; 88 (6): 670-671.
25. De Werra I., Jaccard C., Corradin B., Chiolerio R., Yersin B., Gallati H., Assicot M., Bohuon C., Glauser M.P., Neumann D. Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock and bacterial pneumonia. // *Crit. Care Med.* 1997; 25 (4): 607-613.
26. Docke W.D., Reinke P., Syrbe U., et al. Immunoparalysis in sepsis- from phenomenon to treatment strategies // *Transplantationmedizin.* 1997; 9: 55-65.
27. Eberhard O.K., Langefeld I., Kuse E.R., Brunkhorst F.M., Kliem V., Schlitt H.J., Pichlmayr R., Koch K.M., Brunkhorst R. Procalcitonin in the early phase after renal transplantation - will it add to diagnostic accuracy? // *Clin. Transplantation.* 1998; 12: 206-211.

28. Fleischhack G., Cipic D., Juetter J., Hasan C., Bode U. Procalcitonin- a sensitive inflammation marker of febrile episodes in neutropenic children with cancer. // *Intensive Care Med.* 2000; suppl. 2: 202-211.
29. Gendrel D., Raymond J., Assicot M., Moulin F., Iniguez J-L., Lebon P., Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. // *Clin. Infect. Dis.* 1997; 24: 1240-1242.
30. Gerard Y., Hober D., Assicot M., Alfandari S., Ajana F., Bourez J-M., Chidiac C., Mouton Y., Bohuon C., Wattré P. Procalcitonin as a marker of bacterial sepsis in patients infected with HIV-1. // *J. Infection* 1997; 35: 41-46.
31. Gerard Y., Hober D., Petitjean S., Assicot M., Bohuon C., Mouton Y., Wattré P. High serum procalcitonin level in a 4-year-old liver transplant recipient with a disseminated candidiasis. // *Infection.* 1995; 23: 310-311.
32. Gramm H.J., Hannemann L., Reinhart K., Lode H. [Sepsis: a conception in change. Possibilities and limitations of diagnosis based of clinical criteria]. // *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1995; 120 (14): 498-502.
33. Gramm H-J., Dollinger P., Beier W. Procalcitonin –a new marker of host inflammatory response. Longitudinal studies in patients with sepsis and peritonitis. // *Chir. Gastroenterol.* 1995; 11[Suppl]: 51-54.
34. Hammer S., Meisner F., Dirschedl P., Höbel G., Fraunberger P., Meiser B., Reichardt B., Hammer C. Procalcitonin: a new marker for diagnosis of acute rejection and bacterial infection in patients after heart and lung transplantation. // *Transplant. Immunology.* 1998; 6: 235-241.
35. Huttemeier P.C., Ritter E.F., Benveniste H. Calcitonin gene-related peptide mediates hypotension and tachycardia in endotoxin rats. // *Am. J. Physiol.* 1993; 265: 4767.
36. Joyce C.D., Fiscus R.R., Wang X. Dries D.J., Morris R.C., Prinz R.A. Calcitonin related peptide levels are elevated in patients with sepsis. // *Surgery* 1990; 108: 1097.
37. Karzai W., Oberhoffer M. et al. Procalcitonin - a new indicator of systemic response to severe infections. // *Infection.* 1997; 25 (6): 329-334.
38. Kylänpää-Bäck M.L., Takala A., Kemppainen E., Puolakkainen P., Haapiainen R., Repo H. Procalcitonin strip test in the early detection of severe acute pancreatitis. // *British Journal of Surgery* 2001; 88 (2): 222-227.
39. Meisner M. PCT - procalcitonin. A new and innovative parameter in diagnosis of infections. // *B.R.A.H.M.S. Diagnostica.* Berlin. 1996.
40. Meisner M. PCT - procalcitonin. A new and innovative parameter in diagnosis of infections. // *B.R.A.M.S. Diagnostica,* Berlin. 1996. p. 79.

41. Meisner M. Procalcitonin (PCT). A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. // Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York. 2000. p. 162-175.
42. Meisner M. Procalcitonin (PCT). A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. // Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York. 2000. p. 176-183.
43. Meisner M., Schmidt J. et al. The natural elimination rate of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. // Intensive Care Med. 2000. 26. (S2): 148-152.
44. Meisner M., Tschaikowsky K. et al. Procalcitonin – influence of temperature, storage, anti-coagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. // Europ. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. // 1997; 35 (8): 597-601.
45. Meisner M., Tschaikowsky K., Hutzler A., Schick C., Schuttler J. Postoperative plasma concentration of procalcitonin after different types of surgery. // Intensive Care Med. 1998; 24: 680-684.
46. Meisner M., Tschaikowsky K., Palmaers T., Schmidt J. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. // Critical Care 1999; 3(1): 45-50.
47. Meisner M., Tschaikowsky K., Palmaers T., Schmidt J., Mangold G., Schüttler J. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different APACHE II scores during the course of sepsis and MODS. // Anaesthesiology (Abstract) 1997; 87: 243.
48. Meisner M., Tschaikowsky K., Schmidt J., Schüttler J. Procalcitonin (PCT) - Indications for a new diagnostic parameter of severe bacterial nfection and sepsis in transplantation, immunosuppression and cardiac assist devices. // Cardiovascular Engineering 1996; 1 (1): 67-76.
49. Mimoz O., Benoist J.F., Edouard A.R., Assicot M., Bohuon C., Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. // Intensive Care Med. 1998; 24: 185-188.
50. Moore F.A. Postinjury multiple organ failure: a bimodal phenomenon. // J. Trauma. 1996; 40: 501-510.
51. Niebauer J. Endotoxins and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. // Lancet. 1999; 353: 1838-1842.
52. Nijsten M, Olinga P, Hauw The T, de Vries E.G.E., Koops H.S., Groothuis G.M.M., Limburg P.C., ten Duis H.J., Moshage H., Hoekstra H.J., Bijzet J., Zwaveling J.H. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. // Crit. Care Med. 2000; 28 (2): 458-461.
53. Nishikura T. The clearance of procalcitonin (PCT) during continuous veno-venous hemo-diafiltration (CVVHD). // Intensive Care Med. 1999; 25 (10): 1198-1199.

54. Nylen E., Snider R., Thompson K., Rohatgi P., Becker K. Pneumonitis-associated hyperprocalcitoninemia. // *Am. J. Med. Sci.* 1996; 312 (1): 12-18.
55. Nylen E.S., Muller B., Snider R.H., Vath S.D., et al. Pathophysiological significance of calcitonin precursors in sepsis and systemic inflammation. // *Shock.* 1999; 12: 14 (Abstract).
56. Nylen E.S., Whang K.T. et al. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. // *Crit. Care Med.* 1998; 26: 1001-1006.
57. Oberhoffer M., Karzai W., Meier-Hellmann A., Bögel D., Fassibinder J., Reinhart K. Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in patients with sepsis. // *Crit. Care Med.* 1999; 27: 1814-1818.
58. Oberhoffer M., Rufiwurm S., Bredle D., Chatzinicolaou K., Reinhart K. Discriminative power of inflammatory markers for prediction of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in ICU patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) or sepsis at arbitrary time points. // *Intensive Care Med.* 2000; 26(Suppl 2): 170-174.
59. Oberhoffer M., Russwurm S. et al. Human peripheral blood mononuclear cells express mRNA for procalcitonin. // *Abstr. Br. J. Anaesth.* 1998; 80.
60. Pittet D., Rangel-Frausto S., Li N., et al. SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. // *Ibid.* 1995; 21: 302-309.
61. Rangel-Frausto M.S., Pittet D., Costigan M., Hwang T., Davis C.S., Wenzel R.P. The natural history of systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. // *J.A.M.A.* 1995; 273 (2): 117-123.
62. Rau B., Pralle U., Mayer J.M., Beger H.G. The role of ultrasonographically guided fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of infected pancreatic necrosis. // *Br J Surg* 1998; 85: 179-184.
63. Rau B., Steinbach G., Baumgart K., Gansauge F., Griinert A., Beger H.G. The clinical value of procalcitonin in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. // *Intensive Care Med.* 2000; 26(Suppl 2): S159-164.
64. Redl H., Schlad G., et al. Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: Relationship to cytokines and neopterin. // *Crit. Care Med.* 2000; 28 (11): 3659-3663.
65. Reinhart K., Carlet J. Procalcitonin- a new marker of severe infection and sepsis. // *Intensive Care Med.* 2000.26: S 145.
66. Reinhart K., Karzai W., Meisner M. Procalcitonin as a marker of the systemic inflammatory response to infection. // *Intensive Care Med.* 2000; 26: 1193-1200.

67. Reinhart K., Meisner M., et al. Diagnosis of sepsis: Novel and Conventional Parameters. // *Advances in Sepsis*. 2001; 1 (2): 42-51.
68. Reith H.B., Mittelkotter U., Debus E.S., Kussner C., Thiede A. Procalcitonin in early detection of postoperative complications. // *Dig. Surg.* 1998; 15 (3): 260-265.
69. Reith H.B., Mittelkotter U., Wagner R., Thiede A. Procalcitonin (PCT) in patients with abdominal sepsis. // *Intensive Care Med.* 2000; 26 (Suppl 2): 165-169.
70. Rothenburger M., Markewitz A., Lenz T., Kaulbach H-G., Marohl K., Kuhlmann W-D., Weinhold C. Detection of acute phase response and infection. The role of procalcitonin and C-reactive protein. // *Clin. Chem. Lab. Med.* 1999; 37 (3): 275-279.
71. Ruokonen E. Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1999; 18: 283-285.
72. Russwurm S., Wiederhold M., Oberhoffer M., Stonans I., Peiker G., Reinhart K. Procalcitonin as monocyte marker for early diagnosis of septic abortion [in German]. // *Z. Geburtsh. Neonatol.* 2000; 204: 34-38.
73. Saffle J.R., Sullivan J.J., et al. Multiple organ failure in patients with terminal injury. // *Crit. Care Med.* 1993; 21: 1673-1683.
74. Salvo J., de Cian W., Mussico M., et al. The Italian sepsis study: preliminary results on the incidence and evolutions of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. // *Intensive Care Med.* 1995; 21: 244-249.
75. Schlad G., Redl H. et al. Delayed treatment with the NO - synthase inhibitor 546C88 in a baboon septic shock. // *Abstr. Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997. 155: A263.
76. Smith M.D., Suputtamongkol Y., et al. Elevated serum procalcitonin levels in patients with melioidosis. // *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20: 641-645.
77. Steinberg W., Tenner S. Acute pancreatitis. // *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 1198-1205.
78. Vincent J.-L., Mercan D. Dear Sirs, What is your PCT? // *Intensive Care Med.* 2000; 26: 1170-1171.
79. Wanner G.A., Keel M., Steckholzer U., Beier W., Stocker R., Ertel W. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. // *Crit. Care Med.* 2000; 28 (4): 950-957.
80. Zeni F., Freedman B.D., Natanson C. Antiinflammatory therapies to treat sepsis and septic shock. // *Crit. Care Med.* 1997; 25: 1095-1100.