

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
**katedra biologických a lékařských věd**

**Role prokalcitoninu v diagnostice  
bakteriální sepsy**  
(bakalářská práce)

<b>Autor:</b>	<b>Veronika Hetešová</b>
<b>Vedoucí práce:</b>	<b>Mgr. Klára Konečná</b>
<b>Externí školitel:</b>	<b>MUDr. Martin Čermák</b>

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou vedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

V Dobříši dne 31. 7. 2008

*Helešová*  
.....

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především svému externímu školiteli MUDr. Martinu Čermákovi za cenné rady a připomínky, dále pak vedoucí své bakalářské práce Mgr. Kláře Konečné za odborné vedení.

## Souhrn

Tato práce se věnuje posouzení významu prokalcitoninu v diferenciální diagnostice infekční a neinfekční etiologie systémové zánětlivé odpovědi organismu. V první kapitole uvádí definice a etiologii systémové zánětlivé odpovědi, sepsi a septickému šoku, popisuje jeho patofyziologii. V následujících statích se podrobně věnuje charakteristice prokalcitoninu, jeho biochemii, fyziologii a tvorbě prokalcitoninu během zánětu a v rozličných klinických stavech. Dále popisuje úlohu dalších mediátorů zánětu a srovnává tyto s prokalcitoninem. Na několika stranách též popisuje metodiky laboratorního stanovení prokalcitoninu.

Prokalcitonin je vysoce selektivní vůči systémovému bakteriálnímu zánětu. Operační trauma, virové záněty nebo autoimunní procesy, které nespecificky zvyšují hladiny zánětlivých cytokinů, C-reaktivního proteinu a dalších proteinů akutní fáze, nemají na dynamiku prokalcitoninu významnější vliv. Prokalcitonin je spolehlivým parametrem pro predikci infekční etiologie systémové zánětlivé odpovědi.

## Summary

This thesis evaluates the role of procalcitonin in the differential diagnosis of infectious and non-infectious etiology of systemic inflammatory response syndrome by the body. The definition and etiology of systemic inflammatory response syndrome, sepsis and septic shock is written in the first chapter. Procalcitonin, it's characteristic, biochemistry, physiology and production within inflammation is depicted in the next chapters. This thesis describes other acute phase proteins and compares them with procalcitonin. Some methods of laboratory determination are depicted in some pages.

Procalcitonin is a highly selective parameter in systemic inflammatory response syndrome. Surgery, virus or autoimmune diseases, which increases level of cytokines, C-reactive protein and other proteins of acute phase non-specific, do not influence the level of procalcitonin. Procalcitonin is a reliable, measurable marker of the clinical course in patients with infectious complications.

## Seznam použitých zkratk

AK.....	aminokyseliny
APP.....	proteiny akutní fáze (Acute Phase Proteins)
ARDS.....	syndrom akutní respirační tísně (Acute Respiratory Distress Syndrome)
ARO.....	anesteziologicko-resuscitační oddělení
BMT.....	transplantace kostní dřeně (Bone Marrow Transplantation)
C3.....	komplementový faktor-3
C4.....	komplementový faktor-4
CALC-I až IV.....	geny kódující kalcitonin (Calcitonin)
CGRP.....	peptid odvozený od genu kalcitoninu (Calcitonin Gene Related Peptide)
CARS.....	syndrom kompenzatorní protizánětové odpovědi (Compensatory Antiinflammatory Syndrome)
CRP.....	C-reaktivní protein
G+, G-.....	grampozitivní, gramnegativní
IL-1, 6, 8.....	interleukin 1, 6, 8
ILMA.....	imunoluminometrická analýza
i. v. ....	intravenózní
LBP.....	Lipopolysaccharide Binding Protein
LPS.....	lipopolysacharid, endotoxin
MODS.....	syndrom multiorgánové dysfunkce (Multiorgan Dysfunction Syndrome)
NO.....	oxid dusnatý (nitric oxide)

- PAF..... faktor aktivující krevní destičky  
(Platelet Activating Factor)
- PCT..... prokalcitonin
- RLU..... luminiscenční jednotky  
(Relative Light Unit)
- SIRS..... syndrom systémové zánětové odpovědi  
(Systemic Inflammatory Response Syndrome)
- T<sub>H</sub>..... pomocné (helper) T lymfocyty
- TNF..... tumor nekrotizující faktor  
(Tumor Necrosis Factor)

## Obsah

<b>1. Úvod .....</b>	<b>12</b>
<b>2. Seps, syndrom systémové zánětové odpovědi a septický šok .....</b>	<b>13</b>
2.1. Základní definice a výklad pojmů.....	13
2.1.1. Syndrom systémové zánětové odpovědi.....	13
2.1.2. Zánět.....	13
2.1.3. Syndrom multiorgánové dysfunkce .....	13
2.2. Etiologie syndromu systémové zánětové odpovědi .....	14
2.3. Seps .....	14
2.3.1. Rozdělení seps podle podmínek vzniku.....	15
2.3.2. Etiologie seps.....	15
2.3.3. Klinika seps .....	15
2.3.4. Seps s anatomicky definovaným ložiskem – seps ložisková.....	16
2.3.5. Seps s anatomicky definovaným ložiskem – seps centrální.....	17
2.3.6 Primární seps .....	18
2.4. Septický šok .....	18
2.4.1. Patofyziologie septického šoku .....	19
<b>3. Charakteristika prokalcitoninu.....</b>	<b>22</b>
3.1. Biochemie prokalcitoninu.....	22
3.2. Genetika prokalcitoninu .....	24
3.3. Fyziologický význam.....	24
<b>4. Prokalcitonin v zánětové reakci, úloha dalších mediátorů zánětu.....</b>	<b>27</b>
4.1. Cytokiny.....	27
4.2. C-reaktivní protein .....	28
4.3. Neutrofilní granulocyty.....	28
4.3. Prokalcitonin během zánětu .....	30



4.4.1. Zdroje prokalcitoninu během zánětu .....	30
4.4.2. Regulace zánětového prokalcitoninu .....	30
4.5. Prokalcitonin v modelových klinických situacích .....	31
4.5.1 Akutní infekční zánět.....	31
4.5.2. Perioperační období.....	33
4.5.3. Mnohočetné trauma .....	34
4.5.4. Popáleninové trauma .....	35
4.5.5. Kardiogenní šok .....	35
4.5.6. Úraz teplem.....	35
4.5.7. Novorozenci .....	35
4.5.8. Celotělové ozáření a transplantace kostní dřeně .....	36
4.5.9. Stavy spojené s leukopenií .....	36
<b>5. Metodika stanovení prokalcitoninu .....</b>	<b>38</b>
5.1. Kvantitativní stanovení prokalcitoninu.....	38
5.1.1. Imunoluminometrická analýza – princip metody.....	38
5.1.2. Imunoluminometrická analýza - <i>LUMitest® PCT ILMA BRAHMS</i> ...	39
5.1.3. Imunoluminiscenční metoda - <i>BRAHMS PCT sensitive LIA</i> .....	40
5.1.4. Imunofluorescenční metoda - <i>BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR</i>	40
5.2. Semikvantitativní stanovení prokalcitoninu .....	41
5.2.1. Imunochromatografická analýza .....	41
5.3. Základní indikace vyšetření prokalcitoninu .....	42
5.4. Interpretace výsledků.....	43
<b>6. Role prokalcitoninu v diagnostice bakteriální sepse .....</b>	<b>44</b>
<b>7. Porovnání prokalcitoninu s dalšími zánětlivými parametry .....</b>	<b>46</b>
7.1. Srovnání proteinů akutní fáze, cytokinů a prokalcitoninu z hlediska diagnostického a ekonomického.....	47

<b>8. Závěr.....</b>	<b>49</b>
<b>9. Literatura.....</b>	<b>50</b>

## **Cíl práce**

Cílem práce je shromáždění dostupných informací o prokalcitoninu v diagnostice sepse a diferenciální diagnostice příčin syndromu systémové zánětové odpovědi (SIRS). V dostupné literatuře ověřit poznatek, že prokalcitonin je vysoce specifický ukazatel systémové bakteriální infekce. Následně ve spolupráci s kliniky naší nemocnice uplatnit tyto poznatky při léčbě septických pacientů.

## 1. Úvod

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou septických stavů a zkoumá roli prokalcitoninu v sepsi a jeho využití v diferenciální diagnostice příčin systémové zánětové reakce.

Prokalcitonin je vysoce specifický ukazatel systémové bakteriální infekce. Byl objeven jako prekurzor kalcitoninu. Plazmatická hladina prokalcitoninu se zvyšuje u bakteriálních infekcí s celkovou zánětovou reakcí. Lokální bakteriální záněty prokalcitonin významně nezvyšují. Zvýšení hladiny je úměrné typu a rozsahu zánětu.

Prokalcitonin je vysoce selektivní vůči systémovému bakteriálnímu zánětu. Operační trauma, virové záněty nebo autoimunní procesy, které nespecificky zvyšují hladiny zánětlivých markerů, nemají na dynamiku prokalcitoninu významnější vliv.

Práce se dále věnuje metodice stanovení prokalcitoninu a v závěru uvádí diferenciální diagnostiku příčin systémové zánětové reakce a porovnává prokalcitonin s ostatními zánětlivými parametry.

## **2. Sepse, syndrom systémové zánětové odpovědi a septický šok**

### **2.1. Základní definice a výklad pojmů**

#### **2.1.1. Syndrom systémové zánětové odpovědi**

Syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS, Systemic Inflammatory Response Syndrome) je syndrom systémové zánětové odpovědi na různé závažné inzulty infekční i neinfekční povahy. Je definován klinicky, při splnění dvou a více následujících kritérií [2]:

- Tělesná teplota nad 38°C nebo pod 36°C
- Srdeční frekvence nad 90/min
- Dechová frekvence nad 20/min nebo hladina arteriálního CO<sub>2</sub> pod 4,3 kPa
- Počet leukocytů nad 12000/mm<sup>3</sup> nebo pod 4000/mm<sup>3</sup> nebo přítomnost více než 10% nezralých forem (tyčů)

Jedná se o systémový zánět, který je delokalizován a dysregulován a tak může poškodit svého hostitele. Pokud je SIRS způsobená infekcí, jedná se o sepsi.

#### **2.1.2. Zánět**

Zánět je komplexní systém obranných reakcí tkání organismu na inzult. Cílem zánětu je odstranit vyvolávající příčinu, ireverzibilně poškozenou tkáň a následně reparovat poškození. Základem obranného mechanismu zánětu je jeho lokalizace a regulace jednotlivých procesů zánětu [6].

#### **2.1.3. Syndrom multiorgánové dysfunkce**

Syndrom multiorgánové dysfunkce (MODS, Multiple Organ Dysfunction Syndrome) vzniká tehdy, pokud dojde k poruše homeostázi takového stupně, že ta nemůže být udržena bez zevní intervence. Je buď primární, který je přímým důsledkem vyvolávajícího inzultu nebo sekundární. Sekundární MODS je následkem SIRS [2].

## **2.2. Etiologie syndromu systémové zánětové odpovědi**

SIRS je způsobena vyvolávajícím inzultem. Primární inzult je neinfekční, infekční nebo kombinované etiologie [4].

Mezi neinfekční inzulty vyvolávající SIRS řadíme [2]:

- fyzikální mechanické trauma – polytrauma, rozsáhlý chirurgický výkon
- fyzikální trauma jiné povahy – popáleniny, podchlazení, přehřátí, ozáření
- chemické trauma – intoxikace, popáleniny
- primární hypoxie a hypoperfuze – zástava oběhu, respirační insuficience, šok
- primární imunitní reakce – anafylaxe, autoimunitní choroby
- onkologická onemocnění a komplikace jejich léčby – radioterapie, cytostatická léčba
- metabolický rozvrat – diabetické koma, jaterní selhání, uremické koma
- akutní diseminovaná intravaskulární koagulopatie
- gynekologicko-porodnické příhody – embolie plodové vody, syndrom mrtvého plodu, eklampsie
- masivní krevní transfuze, pankreatitida

Infekční inzulty jsou bakteriální, virové, parazitární a mykotické.

Poslední skupinou jsou inzulty kombinované, tj. jak infekční tak neinfekční. Příkladem může být bronchopneumonie s respirační nedostatečností nebo perforace trávicí trubice s následnou peritonitidou.

## **2.3. Seps**

Jak již je výše uvedeno, seps je SIRS infekční etiologie. Seps a její komplikace představuje i přes stále se prohlubující znalosti patofyziologických mechanismů jednu z hlavních příčin vysoké mortality a morbidity nemocných na anesteziologicko resuscitačním oddělení (ARO). Mezi základní a v současném pojetí nezpochybnované součásti patogeneze seps patří invaze

mikroorganismů do sterilní tkáně, interakce mezi patogeny a napadeným organismem a produkce mediátorů zánětlivé reakce [3].

### **2.3.1. Rozdělení sepse podle podmínek vzniku**

Sepsi dělíme klinicky podle podmínek vzniku na sepse s anatomicky definovaným ložiskem a sepse primární. V prvním případě jde buď o sepse ložiskovou, kdy ložisko se vyskytuje kdekoli v organismu s výjimkou krevního oběhu a sepse centrální s ložiskem v krevním oběhu. U sepse primární vyvolávací agens „přeskakuje“ v patogenetickém procesu etapu usídlování a vytváření ložiska v orgánu, přímo po průniku do lidského organismu a průniku do krevního oběhu vytváří symptomatologii sepse. Zvláštní skupinu tvoří sepse toxoinfekční. Základním mechanismem, který vyvolává příznaky sepse, je působení původcem vylučovaného toxinu, nikoli přítomnost „celých“ původců. Toxoinfekční sepse je opět buď s anatomicky definovaným ložiskem (např. klostridiová anaerobní flegmóna, maligní formy antraxu) nebo sem patří syndrom toxického šoku. Agens v tomto případě pouze kolonizuje některé sliznice či kožní rány a minimálními příznaky, klinika je vyvolaná velmi intenzivní SIRS vyvolanou toxinem.

### **2.3.2. Etiologie sepse**

Příčinou sepse jsou gramnegativní a grampozitivní bakterie, houby, viry, spirochety i prvoci. Nejčastější je sepse bakteriální [4].

V současné době je 30-50% sepsí způsobeno G+ bakteriemi (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus* rezistentní na meticilin), 30-50% G- bakteriemi (*Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp.), asi 10% způsobují anaerobní bakterie (*Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*) a 5% kvasinky [33].

### **2.3.3. Klinika sepse**

Klinické příznaky sepse jsou následující: hypertermie či hypotermie, náhlé vzestupy febrilií se zimnicí a třesavkou nad 40°C, tachypnoe, tachykardie, známky hyperkinetické cirkulace, hypotenze, pocení, horká, suchá kůže, oschlý jazyk, nauzea, zvracení, zvětšená, palpačně citlivá slezina.

### Stadia sepse podle klinických příznaků (tab. 1)[7]

	I. stadium	II. stadium	III. stadium	IV. stadium
barva pokožky	zarudlá	zarudlá až bledá	extrémně bledá	mramorovaná
kožní teplota	nad 38.0 °C	nad 39.0 °C	pod 36.0 °C	pod 35.5 °C
dech	tachypnoe	tachypnoe	chroptivý	bradypnoe
koma	není	somnolence	sopor	koma

Tabulka 1. Stadia sepse podle klinických příznaků

#### 2.3.4. Sepse s anatomicky definovaným ložiskem – sepse ložisková

Sepse ložisková je nejčastější, zjišťujeme bakteriémii či přítomnost jiných agens v krvi. Projevy kolísají podle invazivity původce, rozsahu ložiska a charakteru obranné odpovědi. Nejmírnější formu představuje pomalu se formující absces v měkké tkáni, projevuje se intermitentními teplotami s malou tendencí ke vzniku oběhové nestability či MODS.

Na opačné straně je například sterkorální peritonitis, kdy dojde ke vstřebání velkého množství patogenů do oběhu a rychlé SIRS. Klinicky někdy dominuje orgánové postižení s kriterii SIRS bez sklonu k MODS, jindy naopak těžká SIRS s rozvojem MODS.

Klinika může být velmi modifikována průběhem základního onemocnění a projevy SIRS mohou být méně obvyklé (zejména ve vysokém věku se může projevit jen zmateností, tachykardií, tachypnoí, glukózovou intolerancí a občasnou hypotenzí).



Pro diagnostiku je prioritní určení ložiska sepse a příslušného patogena (tab. 2) [2].

furunkl, popáleniny	<i>Staphylococcus aureus</i>
extrakce zubu	<i>Streptococcus viridans</i> a anaerob
narkoman	<i>Staphylococcus aureus</i> nebo G- mikrob
po splenektomii	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>Neisseria meningitidis</i>
respirační infekce	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.
intraabdominální infekce	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., anaerob, <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.
septický potrat	smíšená aerobní i anaerobní flora
urologický výkon, močová infekce	<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Serratia marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.

Tabulka 2. Septické ložisko a pravděpodobný patogen

### 2.3.5. Sepse s anatomicky definovaným ložiskem – sepse centrální

Sepse centrální je infekce se septickým průběhem, kdy se ložisko nachází v oběhové soustavě. Patří sem infekční endokarditis, septická tromboflebitis, septická arteritis a sepse způsobená cizorodým materiálem v krevním oběhu (použití intravaskulárních kanyl a katétrů). Klinika je opět závislá na vyvolávajícím agens, agresivní agens způsobí charakteristicky značnou intenzitu SIRS s nepříliš vyznačenými dalšími příznaky (např. endokarditis,

tromboflebitis pánevních žil), méně invazivní flora naopak vleklé febrilie, SIRS je slabě vyjádřena.

### **2.3.6 Primární sepse**

Základní charakteristikou primární sepse je, že není možné určit základní septické ložisko. Etiologicky se uplatňuje *Neisseria meningitidis*, *Branhamella (Moraxella) catarrhalis* a *Streptococcus pneumoniae*. Patogeneze je dána velkou invazivitou vyvolávajícího agens, které se setkává s pozměněnou imunitní odpovědí hostitele, vede k prudké SIRS. Ta však nejen že nezabrání, ale ani neohraničí další invazi a množení původce. V případě meningokokové či branhamellové sepse se jedná o dosud neurčené faktory. U pneumokové sepse jde o pacienty po splenektomii s deficitem některých opsonizačních faktorů tvořených ve slezině (tetrapeptid tuftsin) [4].

Průběh primární sepse je velmi prudký, rozvoj SIRS v hodinách od začátku příznaků, vede v prvních 24 hodinách k rozvoji septického šoku a závažné diseminované intravaskulární koagulopatii. Společným důsledkem je rychlé MODS. Často postihne i jinak dobře „chráněnou“ oblast kůry nadledvin, což vede k nezvladatelnému septickému šoku a smrti organismu do několika hodin [7].

### **2.4. Septický šok**

Je akutní oběhové selhání s projevy hypotenze (přetrvávající i po adekvátní úpravě deficitu volumu) a orgánové dysfunkce v souvislosti s probíhající těžkou sepsí a nadbytkem endogenních mediátorů. Tj. vzniká následkem přítomnosti bakterií nebo toxického působení jejich produktů.

Je to šok distribuční, charakterizovaný difúzním poškozením mikrocirkulace s vazodilatací, otevřením arterio-venózních zkratů, sekvestrací krve do kapacitních žil a maldistribucí krevního průtoku vede k relativní hypovolemii, snížení periferní rezistence a zhoršení utilizace kyslíku. Přidružuje se i skutečná hypovolemie při zvýšené permeabilitě kapilár. Přidává se též primární postižení buněčného metabolismu a deprese myokardu. Stoupá metabolická aktivita tkání se zvýšenou spotřebou kyslíku ve tkáních.

### 2.4.1. Patofyziologie septického šoku

Septický šok je důsledkem rozsáhlého poškození endotelu systémovým zánětem. Zánětlivá odpověď je spouštěna přítomností mikroorganismů nebo jejich toxinů v krvi či při ischemickém poškození střevní sliznice dochází k bakteriemii nebo endotoxinemii. Některé bakterie produkují jeden toxin (tetanus, cholera...), jiné G<sup>+</sup> produkují různé exotoxiny. G<sup>-</sup> bakterie obsahují ve své stěně endotoxin. Klíčovým faktorem je uvolnění lipopolysacharidového komplexu endotoxinu (LPS) ze stěny bakterií, jehož cílovou strukturou je cévní endotel. Rozhodující roli hraje LBP (Lipopolysacharide Binding Protein), jež je schopen LPS prezentovat adaptačním molekulám v podobě receptoru CD 14. Ten je přítomen jednak na buňkách myeloidní řady (monocyty, makrofágy), jednak je solubilní. Tím je umožněna internalizace endotoxinu, jeho detoxikace a clearance. Septický šok mohou tedy spustit různé mediátory, ale další hemodynamické změny jsou totožné [3].

Dochází k produkci proinflamatorních cytokinů, porušení autoregulační ochrany systému cytokinů. Z aktivovaných makrofágů se uvolňují: TNF alfa, IL1, IL6 a IL8.

TNF alfa je vůdčí mediátor v inicializaci odpovědi hostitele na infekci, řada jeho účinků je zprostředkována cyklooxygenázovou cestou přeměny kyseliny arachidonové. Vznikají prostaglandiny s výraznými vazoaktivními účinky, ovlivňují trombocyty, zvyšují cévní permeabilitu a leukotrieny zvyšují cévní permeabilitu, způsobují koronární vazokonstrikci a snižují minutový krevní objem. Dále aktivuje Platelet Activating Factor (PAF), který snižuje krevní tlak, zvyšuje cévní permeabilitu a agregaci trombocytů a NO-syntetázu [4].

IL 1 se objevuje krátce po TNF. Působí synergicky s TNF - aktivuje PAF, NO-syntetázu, indukuje cyklooxygenázu.

IL 6 a IL 8 jsou cytokiny méně prozánětlivé, jsou zapojeny do reparačních procesů a mají důležitou zpětnovazebnou úlohu při tvorbě TNF a IL-1.

Uvolněné cytokiny též vedou k produkci adhezivních molekul, u nichž dojde k adhezi neutrofilů na endotel a následné extravaskulární migraci aktivovaných leukocytů, chemokinů (IL 8) a k tvorbě toxických superoxidových radikálů. Aktivuje se komplement alternativní cestou (velmi časně aktivuje leukocyty

adherující k endotelu a extravazující), systém kallikrein-kinin (způsobí vazodilataci, zvýšenou kapilární permeabilitu, depresi myokardu, aktivuje krevního srážení), růstové faktory, endogenní opioidy. Ze zanikajících, ischemizovaných, hypoxických a sepsí ovlivněných buněk se uvolňují lysozomální enzymy (látky přímo cytotoxické), způsobují depresi myokardu, koronární vazokonstrikci, aktivují systém kallikrein-kinin [3].

Klíčovou úlohu hraje indukce vzniku NO - syntetáza *de novo*. NO má vazodilatační účinky a inhibuje agregaci trombocytů a jejich adhezi. NO syntetáza existuje ve dvou formách: konstitutivní NO syntetáza je přítomna na endoteliích a zodpovídá za bazální sekreci NO a fyziologické regulaci cévního tonu. Indukovaná NOS je produkována buňkami endotelu a hladké svaloviny cév i monocyty za 4-18 h po stimulaci TGF, cytokiny a endotoxinem. Výsledkem je protrahované zvýšení tvorby NO s přetrvávající vazodilatací, hypotenzí a snížením reaktivity na katecholaminy [4].

Uvedené patofyziologické důsledky aktivace kaskád a uvolněných mediátorů vedou k tkáňové dysoxii, vzniku SIRS s vystupňovaným metabolickým obratem, změněnou utilizací substrátů, ke generalizovanému hyperdynamickému stavu a k syndromu zvýšené kapilární permeability.

Pokud tyto děje shrneme, tak působením bakteriálních toxinů a cytokinů uvolněných do oběhu při nadměrné SIRS dochází k poškození všech buněk organismu a rozvoji celotělové energetické poruchy. Ve snaze upravit metabolické poruchy poškozených buněk dochází ke generalizované dilataci arteriol a vzniku hyperdynamického oběhu. Vazodilatace je podporována horečkou a v důsledku působení bakteriálních toxinů a mediátorů na cévní stěnu. Kapilární průtok není zpočátku porušen, ale buňky postižené sepsí nejsou schopny v důsledku metabolického bloku živiny a kyslík z krve získávat. Tj. i při normálním nebo dokonce zvýšeném minutovém srdečním výdeji a normálním krevním tlaku vzniká hypoxie a metabolická laktátová acidóza kompenzovaná respirační alkalózou. Metabolická acidóza je zhoršována poškozením ledvin při SIRS. Další zhoršení mikrocirkulace způsobuje intersticiální edém a okluze kapilár poškozenými endoteliemi, agregáty leukocytů, fibrinu a trombocytů s možností rozvoje diseminované intravaskulární koagulopatie. Po určité i několikadenní době latence náhle klesá krevní tlak a

rozvíjí se septický šok. Hypotenze je pozdní komplikací zpravidla již ve fázi pokročilých orgánových změn. Na vzniku hypotenze se vedle vazodilatace podílí progredující hypovolemie, způsobená únikem intravaskulární tekutiny do intersticia, zvýšeným pocením a hyperventilací při horečkách, zvracením či průjmy. Reakcí na hypotenzi je vystupňovaná vazokonstrikce s poklesem žilního návratu. Vazokonstrikce sice může vést ke zvýšení krevního tlaku, ale dále zhorší tkáňovou perfuzi a prohloubí hypoxii a zhorší šok.

Celkové účinky mediátorů však na organismus působí spíše negativně. Vyvolávají tachykardii, leukopenii, sekvestraci v tkáni plic, ledvin a srdce. V játrech se působení mediátorů projevuje zpomalením toku žluče (v závislosti na množství endotoxinu) se současným snížením vylučování organických iontů. Další účinek mediátorů je v podobě Adult Respiratory Distress Syndromu (ARDS) a MODS.

Systémová vazodilatace z nadprodukce NO vedoucí k perifernímu oběhovému selhání, poklesu systémové vaskulární rezistence. Distribuce kyslíkového fluxu je nerovnoměrná. V kosterním svalstvu je extrakce nízká (perfuze pod vlivem katecholaminů), v játrech a splachniku je kyslíková obrátka zvýšená a extrakce je jen mírně snížená (perfuze pod vlivem angiotenzinu a částečně vazopresinu). Krev městná v paralyzovaném krevním řečišti, klesá žilní tonus. Výrazně se uplatňuje zkratová arteriovenózní cirkulace [4].

### **3. Charakteristika prokalcitoninu**

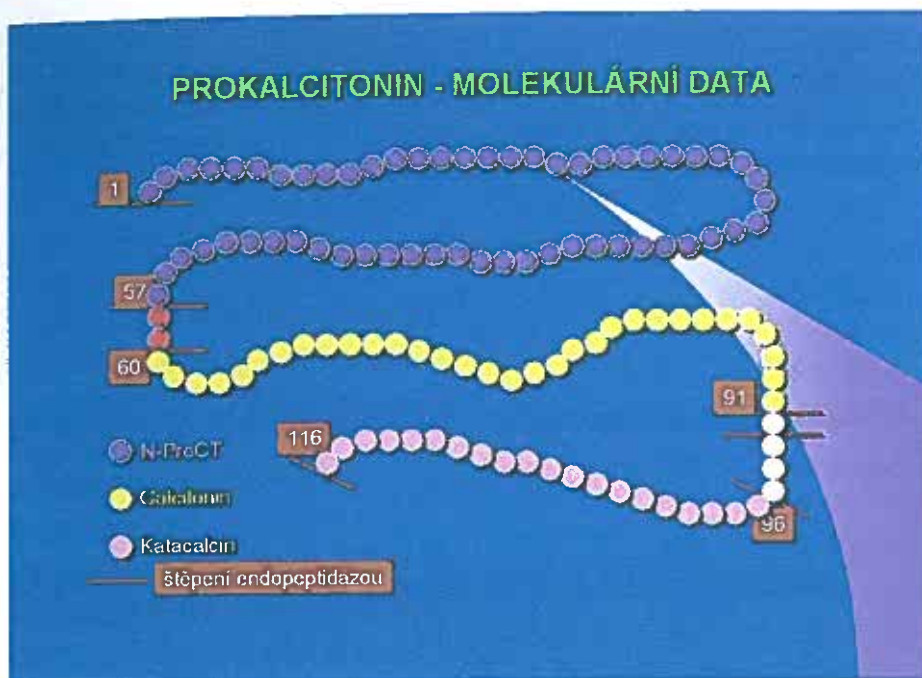
Prokalcitonin (PCT) je nový, vysoce specifický ukazatel systémové bakteriální infekce. Byl objeven před 26 lety jako prekurzor kalcitoninu, tvořený C buňkami štítné žlázy a intracelulárně formovaný proteolýzou do podoby aktivního hormonu.

Od roku 1993, kdy byla poprvé zjištěna vysoká plasmatická hladina tohoto proteinu u pacientů s bakteriální infekcí [27], si PCT našel významné místo v diagnostice a diferenciaci zánětlivých stavů. Přes intenzivní výzkum zůstává řada nejasností ohledně metabolismu tohoto „zánětlivého“ PCT a jeho fyziologického významu. Nejvyšších plasmatických hladin dosahuje PCT u akutních bakteriálních infekcí a při sepsi [5].

#### **3.1. Biochemie prokalcitoninu**

Prokalcitonin (PCT) je protein o sekvenci 116 aminokyselin a je prohormonem kalcitoninu. Za fyziologických podmínek je kalcitonin secernován C buňkami štítné žlázy, kde je tvořen právě ze svého prekurzoru – prokalcitoninu. Dochází k tomu při specifické intracelulární proteolýze, kdy z prekurzorového peptidu – preprokalcitoninu složeného ze 141 aminokyselin (AK) vzniká N-terminální oblast PCT (57 AK), kalcitonin (32 AK) a katakalcin (21 AK) [9].

Signální sekvence na N-konci svým hydrofobním charakterem umožňuje vazbu do endoplazmatického retikula, poté je endopeptidázou odstraněna za vzniku PCT. Intracelulárně je PCT v C buňkách dále štěpen – je odstraněn N-terminální úsek a C-terminální fragment (katakalcin) za vzniku hormonu kalcitoninu. Kalcitonin je uvolněn do oběhu až po utvoření sekundární a terciální struktury. Mezi cysteinovými zbytky na 1. a 7. pozici se vytváří disulfidický můstek a na C konci se hydroxyluje prolin. Obě struktury, které jsou nezbytné pro vazbu kalcitoninu na cílový receptor, tedy nejsou obsaženy ve struktuře PCT, ale až v jeho štěpném produktu kalcitoninu.



Obr.1. Peptidový řetězec o 116 aminokyselinách

Řetězec obsahuje sekvenci N-ProCT (1-57), lyzin a arginin, sekvenci Calcitoninu (60-91), 4 další aminokyseliny (92-95) a sekvenci kalcalcinu (96-116). Čísla vyznačují místa podléhající štěpení endopeptidázami. Podle Conlona et al. (1998) [34]

Prakticky veškerý PCT je v endoplazmatickém retikulu C buněk štítné žlázy přeměněn na kalcitonin, takže nedochází k uvolnění PCT ze štítné žlázy do krevního oběhu. Jeho hladiny u zdravých jedinců jsou nízké, případně pod limitem detekce. V plazmě přitom pravděpodobně neexistují enzymy, které by cirkulující PCT mohly štěpit. Znamená to, že pokud se PCT nějakým neznámým mechanismem vyhne intracelulární proteolýze a je secernován do oběhu, zůstává zde v nezměněné podobě s dlouhým poločasem 25-30 h. Na druhé straně vlastní hormon kalcitonin má plazmatický poločas pouze 4-5 minut [1].

Přestože struktura tyreoidálního a zánětového PCT je totožná, jejich regulace se za fyziologických podmínek zásadně liší. C buňky štítné žlázy reagují především na vzestup hladiny kalcia. Hyperkalcémie ale nemá vliv na PCT, který je uvolňován do cirkulace při zánětu. Tvorba PCT během zánětu je úzce svázaná s bakteriálním endotoxinem a s prozánětovými cytokiny, zejména faktorem nekrotizujícím tumory- $\alpha$  a interleukinem 1 $\beta$  [12].

Cesta eliminace PCT z organismu není dosud známa. Pravděpodobně však bude jako jiné plazmatické proteiny PCT odbouráván proteolýzou. Klinická data od pacientů s těžkým poškozením ledvin neprokázala akumulaci PCT v organismu, což svědčí pro pouze okrajovou roli ledvin při jeho eliminaci. Ve vztahu k produkci PCT byly zkoumány různé tělní tekutiny – cerebrospinální mok při meningitidách, ascites při peritonitidě nebo broncho-alveolární laváž při pneumonii. Pouze v případě pleuritidy byla zjištěna vysoká koncentrace PCT; v cerebrospinálním moku a broncho-alveolární laváži nebyl zjištěn specifický vzestup koncentrace PCT, a to ani tehdy, pokud jeho koncentrace v plazmě byla zvýšená [9]

### **3.2. Genetika prokalcitoninu**

Komplex genů kódujících kalcitonin a příbuzné peptidy je u člověka lokalizován na krátkém raménku 11. chromozomu mezi geny pro katalázu a parathormon. Dosud známé 4 geny tohoto klastru dostaly označení CALC-I až CALC-IV .

CALC-I je gen pro prekurzor kalcitoninu, který je uvolňován C buňkami štítné žlázy. Gen se sestává z 6 exonů, z nichž čtvrtý obsahuje sekvenci pro kalcitonin, pátý sekvenci pro kalcitonin gene related peptide I (CGRP-I) a šestý je nekódující. Sekvence pro CGRP-I je po transkripci genu z řetězce mRNA odstraněná; proteinový řetězec preprokalcitoninu o 141 aminokyselinách a molekulovou hmotností 16 kD, který je produktem translace, tedy sekvenci CGRP-I již neobsahuje. Předpokládá se, že stejný gen odpovídá i za expresi zánětového PCT. Nicméně není vyloučeno, že tato forma PCT je kódována jiným genem ze společného klastru genů umístěného na 11. chromozomu [12].

### **3.3. Fyziologický význam**

Role PCT jako parametru infekčního zánětu byla věrohodně doložena. Jeho fyziologická úloha zůstává ale dosud neobjasněna. Nebyly dosud nalezeny ani specifické receptory pro PCT.



Dosavadní hypotézy, opírající se o zvířecí modely nebo o experimenty *in vitro*, se zaměřují na potencionální úlohu PCT v následujících oblastech:

- metabolismus kalcia a fosfátů
- cytokinová síť a modulace syntézy oxidu dusnatého (NO)
- analgetický účinek

Vztah mezi PCT a metabolismem kalcia a fosfátů nebyl dosud prokázán. U pokusných zvířat v modelu sepse sice byla pozorována hypokalcémie a vzestup koncentrace fosfátů [23], další studie jsou ale s tímto nálezem v rozporu a dokumentují střídavě vzestup, pokles nebo žádné změny hladiny kalcia v průběhu experimentální sepse. I když u septických pacientů vzniká často hypokalcémie, hladiny kalcia a fosfátů s hladinou PCT významně nekorelují [12].

Naopak zapojení PCT do cytokinové sítě může mít fyziologické opodstatnění. Cytokiny hrají rozhodující roli v regulaci syntézy PCT během zánětu a hladiny hlavních prozáněťových cytokinů u septických pacientů významně korelují s hladinou PCT.

Přímý stimulační efekt PCT v syntéze cytokinů většina studií neprokázala. Výsledky jednotlivých autorů se ale liší.

Zvažuje se i možná úloha PCT v modulaci tvorby NO, kde se prozáněťové cytokiny rovněž uplatňují. Indukovatelná varianta syntézy NO je pravděpodobně mírně inhibována vlivem PCT [12].

Jedna z nedávných studií Bruckera et al. [24] přisuzuje PCT úlohu endogenního analgetika během zánětu. *In vitro* byl prokázán pokles koncentrace tromboxanu B, po přidání kalcitoninu nebo PCT. Efekt je závislý na koncentraci obou hormonů a je výraznější u PCT než u kalcitoninu. Koncentrace tromboxanu se významně snižuje již při hladinách, které jsou u pacientů obvykle dosahovány. Tento účinek, pravděpodobně daný inhibicí prostaglandin G,H-syntetázy, podobný působení nesteroidních analgetik, přitom nevyžaduje vazbu hormonu na buněčný receptor.

Počítačová analýza, vycházející z aminokyselinové struktury řetězce PCT a z uspořádání genu CALC-I, umožňuje spekulovat i o dalších, zatím

nepotvrzených efektech PCT. Závěry ale zůstávají na úrovni hypotéz a vyžadují experimentální ověření [12].

## 4. Prokalcitonin v zánětové reakci, úloha dalších mediátorů zánětu

### 4.1. Cytokiny

Po narušení integrity vnitřního prostředí organismu, probíhá aktivace imunitního systému s produkcí sekrečních peptidů a proteinů. Hlavní úlohou těchto působků, je usměrnění funkce a proliferace buněk a tkání v průběhu lokální nebo systémové zánětové odpovědi. Tyto mediátory, jsou souhrnně označovány jako cytokiny [1].

Cytokiny jsou polypeptidy uvolňované aktivovanými lymfocyty, makrofágy a endoteliemi. Ovlivňují termoregulaci, endokrinní a metabolické funkce a mají významnou úlohu v obranyschopnosti organismu. Cytokiny jsou důležitými mediátory SIRS.

Faktor nekrotizující tumor (TNF) se v krvi objevuje brzy po endotoxinu. Je považován za vůdčí mediátor v iniciaci odpovědi hostitele na infekci. Řada jeho účinku je zprostředkována cyklooxygenázovou cestou metabolismu kyseliny arachidonové.

Interleukin 1 (IL-1) se objevuje krátce po TNF. Oba cytokiny působí synergicky, částečně indukcí cyklooxygenázy, faktoru aktivujícího trombocyty (PAF – platelet activating factor) a NO syntetázy. Jejich přítomnost je nutná pro rozvoj akutních hemodynamických a metabolických poruch spojených s bakteriální infekcí.

Následně se v oběhu objeví další cytokiny včetně IL-6 a IL-8. Tyto cytokiny jsou méně prozánětlivé. Jsou zapojeny do reparačních procesů a mohou mít důležitou zpětnovazebnou úlohu při tvorbě TNF a IL-1 [4].

Působením prozánětlivých cytokinů TNF alfa, IL-1, IL-8 a IL6 se kromě účasti v zánětlivé odpovědi dramaticky mění i kvalita proteosyntézy v játrech. Nejdůležitějším (regulujícím) induktorem syntézy proteinů akutní fáze v hepatocytech je IL-6 [11].

## **4.2. C-reaktivní protein**

Zvláštní postavení mezi proteiny akutní fáze má C-reaktivní protein (CRP) – protein s brzkou dynamikou – v hodinách – a až tisícinásobným zvýšením. Již v roce 1930 byl CRP popsán (název dostal od jeho reaktivity k pneumokokovému proteinu C) v plazmě pacientů v průběhu akutní fáze pneumokokové pneumonie [18].

Výhody stanovení CRP tkví v jeho rychlé dynamice, biologickém poločasu, ale také v tom, že sérová hladina není ovlivněna věkem ani pohlavím vyšetřovaných osob. CRP a komponenty komplementu jsou jediné proteiny akutní fáze, které se přímo podílejí na eliminaci mikroorganismu. CRP působí jako opsonizující faktor pro fagocytózu bakterií, parazitů a imunokomplexů. Aktivuje klasickou kaskádu komplementu. Nejlépe poznanou funkci CRP je kalcium dependentní schopnost vazby CRP na fosfatidylcholin bakteriální stěny a na buněčné membrány vyšších organismů [5]. Po antigenní stimulaci dochází během několika hodin k nárůstu jeho sérových hladin (za fyziologických podmínek jeho sérová hladina nepřesahuje hodnotu 20 mg/l). Vrchol dosahuje sérová hodnota CRP mezi 36. - 50. hodinou a po odeznění stimulace poměrně rychle klesá k výchozím hladinám. Kromě sérové hladiny CRP je zejména jeho dynamika pro výběr vhodné léčebné strategie nejpodstatnější. Dynamický pokles sérové hladiny CRP průběhu prvních 48 hodin infekčního procesu poměrně přesně odráží správnost (empirické) antibiotické léčby.

## **4.3. Neutrofilní granulocyty**

Kromě již výše uvedených humorálních faktorů hrají formované krevní elementy (zánětové buňky) ústřední úlohu v zánětlivé reakci. Jsou to především neutrofilní granulocyty (mikrofágy, polymorfonukleáry, neutrofilny), které mají schopnost rozeznat cizorodý materiál, migrovat přes cévní stěnu do místa zánětu, pohltit, usmrtit, rozložit nebo jinak zpracovat fagocytovaný obsah.

Neutrofilní granulocyty vyplavené do periferní krve mají krátkou životnost, s biologickým poločasem 6-8 hodin. Když se neutrofilny dostanou do tkání, jejich životnost se prodlužuje na 1-2 dny. Neurohumorální látky (adrenalin a noradrenalin), fragmenty komplementu (C3e, C3d, g), stresové hormony a infekce zapříčiňují zrychlené vyplavování dřevňových neutrofilních granulocytů

do cirkulace, což vede k leukocytóze – neutrofilii. Aktivované neutrofilie ve tkáních jsou schopné produkovat chemotaktické faktory pro monocyty a lymfocyty, což má za následek vstup buněk tohoto typu do místa zánětu, kde vyvolají specifickou imunitní odpověď.

Bakteriální zánět je jednou z nejčastějších příčin neutrofilní leukocytózy. Závažnost neutrofilní odpovědi na bakteriální podnět (zánět) bývá obvykle menší než  $30 \times 10^9/l$ . Posun doleva (nadměrné množství nezralých forem neutrofilů v periferní krvi) obvykle doprovází neutrofilní leukocytózu [20]. Těžkou bakteriální infekci doprovázejí i některé morfologické změny neutrofilů: přítomnost toxických granulací, Dohleho tělísek a vakuolizace. Prediktivní hodnotu pro sepsi mají tyto změny až když jsou přítomny ve více než 50 % granulocytů. Philip a Hewitt [19] u novorozenců prokázali, že poměr tyčí k celkovému počtu neutrofilů vyšší než 0,2 má pro diagnózu sepse vysokou senzitivitu (90%).

V iniciační fázi zánětu můžeme někdy pozorovat přechodnou neutropenii, která se vyvine v důsledku přesunu periferních neutrofilů do marginálních částí (adherence k cévnímu endotelu). V důsledku zvýšené produkce ve dřeni dochází v průběhu několika dalších hodin znovu ke zvýšení počtu cirkulujících leukocytů. V prvním dnu zánětu se převážně vyplavují vyzrálší formy granulocytů (tyče a metamyelocyty). Při septickém průběhu ani přítomnost ojedinělých myelocytů nebo myeloblastů nebývá až tak vzácná. Při déle trvající infekci (nepoznané/neléčené) můžeme v periferní krvi znovu pozorovat přechod do neutropenie, která je zapříčiněná vyčerpáním většiny dřevých zásob zralých i nezralých forem neutrofilů. Při nesprávné interpretaci může být tento pokles leukocytózy mylně považován za znak odeznívajícího zánětu, což obvykle má závažné důsledky. Neutropenie, kterou provází výrazný posun doleva, takřka jednoznačně upozorňuje na déle trvající zánět s vyčerpáním kostní dřevě a tudíž s minimální rezervou mikrofaunu účastnit se obranné reakce [11].

Ještě rychlejší laboratorní odraz probíhající akutní fáze bakteriálního zánětu může poskytnout analýza sérové hladiny IL-6 (cytokin, který kontroluje syntézu CRP v hepatocytech), TNF alfa nebo prokalcitoninu (PCT). Tyto prozánětlivé cytokiny mají výrazně kratší biologický poločas a takřka nulové hodnoty

v období zdraví. Jakékoliv zvýšení jejich sérových hladin může velmi rychle (0-3 hodiny) signalizovat bakteriální stimulaci [11].

### **4.3. Prokalcitonin během zánětu**

#### **4.4.1. Zdroje prokalcitoninu během zánětu**

Na rozdíl od PCT vznikajícího fyziologicky, PCT zvýšený v kritických stavech, vzniká v jiných tkáních, a je za těchto stavů prokazován zvýšený i u nemocných s totální thyreoidektomií.

Za pravděpodobné místo vzniku PCT během zánětu byly v posledních letech pokládány především neuroendokrinní buňky v plicích a ve střevě, tedy elementy evolučně blízké C buňkám štítné žlázy.

Jednu z největších záhad zánětového PCT se podařilo vyřešit až v posledních 2 letech. Tvorba PCT byla skutečně potvrzena v neuroendokrinních buňkách střevních a plicních, v malé míře i v monocytech a makrofázích, ale rovněž v řadě dalších buněčných typů, u kterých se to původně nepředpokládalo. Jedním z minoritních zdrojů PCT v průběhu sepse je např. i hypofýza [1].

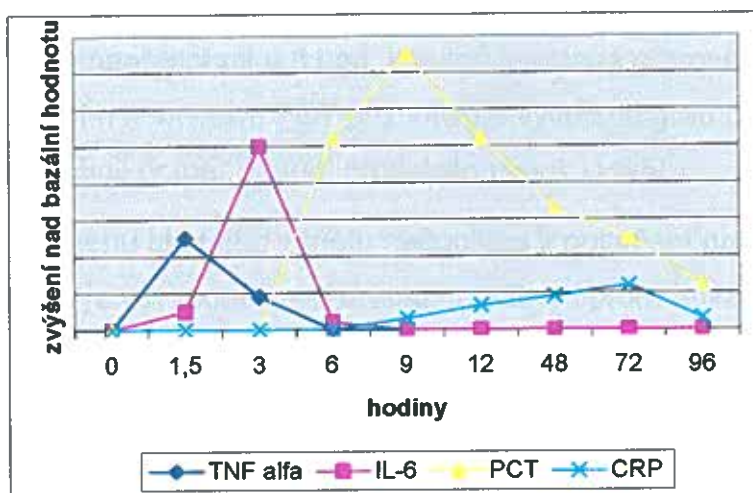
Za hlavní zdroj zánětového PCT byla označena játra [26]. Experimentálně bylo *in vivo* prokázáno, že jedině játra jsou schopna významně zvýšit PCT po bolusové dávce endotoxinu. U hepatektomovaných opic k takovému zvýšení PCT nedochází. Významnými stimuly syntézy PCT jsou prozánětlivé cytokiny IL-6 a TNF alfa [21].

#### **4.4.2. Regulace zánětového prokalcitoninu**

Tvorba PCT během zánětu je úzce svázaná s bakteriálním endotoxinem a s prozánětlivými cytokiny. Endotoxin pravděpodobně aktivuje syntézu PCT a uvolňuje ho do oběhu zprostředkovaně přes skupinu cytokinů.

Vzestup hladiny PCT po podání endotoxinu nastává až s určitým časovým odstupem po vzestupu TNF $\alpha$  a IL-6. TNF $\alpha$  a IL-6 dosahují maximálních koncentrací 90, resp. 180 minut po experimentálním podání endotoxinu. PCT reaguje teprve po 3-6 h a tvorba vrcholí v rozmezí 6-8 h. Díky dlouhému poločasů ale hladiny PCT kulminují až mezi 12. a 48. hodinou. PCT stoupá teda několik hodin po elevaci hladin TNF $\alpha$  a IL-6, ale před vzestupem hladiny CRP.

Na rozdíl od prozáněťových cytokinů, jejichž elevace v záněťových situacích je nespecifická vůči typu zánětu, stoupá PCT s vysokou selektivitou u zánětů bakteriálních [1].



*Graf 1. Schematické znázornění relativního zvýšení tumor nekrotizujícího faktoru (TNF alfa), interleukinu 6 (IL-6), prokalcitoninu (PCT) a C-reaktivního proteinu (CRP) po modelovém i. v. podání endotoxinu (u zvířete)*

#### **4.5. Prokalcitonin v modelových klinických situacích**

K objasnění úlohy, kterou má PCT v záněťové reakci, přispívají i experimentální a klinické studie, vytvářející modelové situace odlišných typů zánětu – operační zákrok, polytrauma, reakce na ozáření, transplantace kostní dřeně, jater a dalších tkání a orgánů apod. Nové pohledy na fyziologii PCT nabízí i studie zaměřené na chování PCT u pacientů s těžkou leukopenií. Tyto studie rozšiřují informace o diagnostickém a diferenciativně diagnostickém významu PCT u dalších skupin pacientů a u dalších diagnóz, než je pouze generalizovaná bakteriální infekce.

Společným výsledkem všech těchto studií je poznání, že PCT nereaguje pouze na LPS, ale jeho plazmatická hladina stoupá i v situacích, které jednoznačně nejsou spojeny s přítomností bakteriálních antigenů [1].

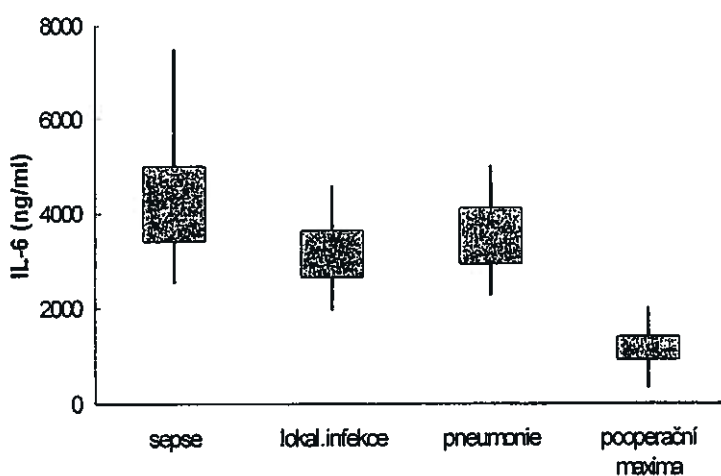
##### **4.5.1 Akutní infekční zánět**

Nejvyšších plazmatických hladin dosahuje PCT u akutních bakteriálních infekcí a při sepsi. Plazmatická hladina PCT se zvyšuje u bakteriálních infekcí

s celkovou zánětovou reakcí. Lokální bakteriální záněty, stejně jako opouzdřené abscesy, PCT významně nezvyšují. Zvýšení hladiny je úměrné typu a rozsahu zánětu. Při těžkých bakteriálních infekcích dosahují plazmatické hladiny PCT až 1000 µg/l. Normální koncentrace v plazmě nebo v séru u zdravých jedinců přitom nepřesahují 0,5 µg/l. Infekce vyvolaná gramnegativními bakteriemi vede k vyšším hodnotám PCT než infekce vyvolaná grampozitivními (ve Svaldiho studii činil poměr hodnot prokalcitoninu 5:1) [25].

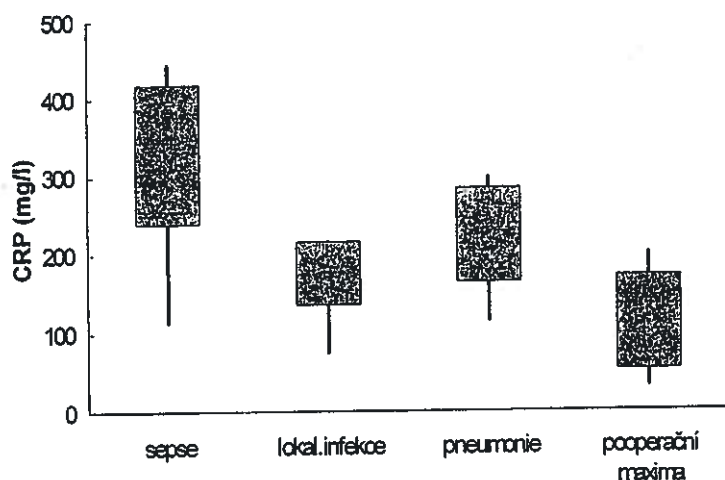
V průběhu akutního zánětu nedochází k potlačení produkce PCT. Na rozdíl od některých cytokinů, jejichž hladina během protražované sepse klesá, zůstává PCT zvýšený po celé toto období. V klinických podmínkách u pacientů v akutní sepsi koncentrace TNF $\alpha$  a IL-6 výrazně kolísají v závislosti na měnících se vzájemných poměrech aktivačních a inhibičních mechanismů, a to často bez zřejmé souvislosti s klinickým průběhem. U stejných pacientů koreluje PCT s klinickým stavem výrazně lépe než TNF $\alpha$ , IL-6 i CRP.

U pneumonie, abscesu a dalších rozsahem omezených infekčních zánětů dochází jen k mírnému zvýšení plazmatické hladiny PCT. Rozdílné chování PCT, IL-6 a CRP dokumentují grafy 2-4.

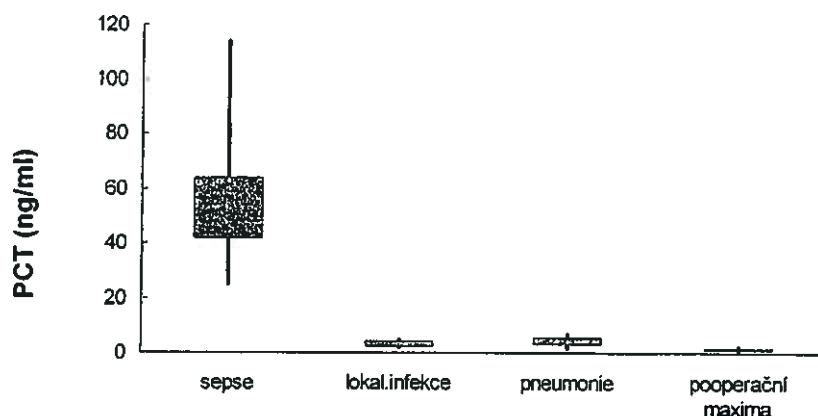


Graf 2. Koncentrace interleukinu 6 v době první manifestace infekce [1]





Graf 3. Koncentrace C-reaktivního proteinu v době první manifestace infekce [1]



Graf 4. Koncentrace prokalcitoninu v době první manifestace infekce [1]

Virové infekce jako je hepatitida B, infekce cytomegaloviry nebo HIV, nezvyšují PCT buď vůbec, nebo jen mírně. Totéž platí pro generalizované mykózy (*Candida*, *Aspergillus*). Na odlišení bakteriální a nebakteriální etiologie zánětu je založen diferenciálně diagnostický význam PCT.

O parazitárních infekcích nemáme zatím dostatek údajů. Je ale známo, že u pacientů s malárií hladiny PCT v akutním období zpravidla přesahují 2 ng/ml a během léčby rychle klesají [1].

#### 4.5.2. Perioperační období

PCT je obdobně jako další zánětové mediátory součástí systémové imunitní odpovědi na operační trauma. To znamená, že přítomnost bakteriálního

endotoxinu není jediným stimulačním momentem tvorby PCT, roli induktora v tomto případě hrají jiné faktory doprovázející aseptický operační zákrok.

Rozsáhlé výkony, zejména nitrobřišní zákroky tvorbu PCT aktivují. Nicméně sterilní chirurgický zákrok nepředstavuje pro syntézu PCT takový impuls jako bakteriální infekce. Koncentrace PCT u většiny chirurgických výkonů zůstávají v širším rozmezí normálních hodnot nebo jen mírně nad tímto rozmezím, tedy řádově níže ve srovnání s hladinami nacházenými u septických pacientů.

Odpověď PCT je úměrná rozsahu operačního traumatu. Senzitivita PCT klesá u menších extraabdominálních výkonů.

Větší operace, zvláště břišní a hrudní a operace v retroperitoneu nebo mediastinu, PCT často zvyšují, ale hodnoty většinou zůstávají pod 2 $\mu$ g/l.

Hodnoty nad 10  $\mu$ g/l jsou neobvyklé a měly by vést k pátrání po infekci.

Po srdečních operacích a hrudní chirurgii zůstává PCT u 90% nemocných pod 2  $\mu$ g/l. Při komplikovaném pooperačním průběhu se u těchto nemocných PCT může dále zvyšovat (medián 6,5  $\mu$ g/l), i když bakteriální infekce jsou vzácné.

Nemocní s abnormálním pooperačním průběhem mají mnohem častěji vyšší PCT než nemocní s průběhem nekomplikovaným. Koncentrace PCT u nich rychle klesají s ústupem zánětu.

PCT na rozdíl od CRP zůstává u chirurgických nemocných nízký nebo se jen mírně zvyšuje. Ke zvýšení dochází zejména po rozsáhlých operacích a maximální hodnoty jsou zjišťovány za 24-48 hodin po ukončení operace. CRP se může zvyšovat několik dní. Zvýšený PCT naopak při běžném pooperačním průběhu rychle klesá [1].

Mechanismy indukce PCT v pooperační době jsou nejasné (translokace bakteriálních endotoxinů během snížené perfúze střev?) [8].

#### **4.5.3. Mnohočetné trauma**

PCT se může zvýšit u 10-20 % postižených do 24-48 hodin. Je to zejména u nemocných s těžkým traumatem břicha, ohrožených komplikacemi a se špatnou prognózou. U nemocných s vývojem SIRS je proti nemocným bez SIRS zjišťován významný rozdíl vrcholových hladin PCT. Také u nemocných s pozdějším vývojem sepse nebo těžkého víceorgánového dysfunkčního

syndromu (MODS) se PCT významně zvyšuje již časně po traumatu. U 80-90% postižených zůstává ale v období 0-48 hodin po traumatu  $PCT < 0,5 \mu\text{g/l}$ . Zvýšení PCT nepřesahuje příliš  $2 \mu\text{g/l}$ . Hodnoty  $5 \mu\text{g/l}$  zpravidla překročeny nejsou. Vrcholu zvýšení PCT je dosahováno během prvního dne po traumatu, vrcholu CRP během druhého dne [10].

#### **4.5.4. Popáleninové trauma**

Zvýšení PCT je úměrné množství a stupni poškození tkáně, ale není úměrné stupni inhalačního popáleninového traumatu. PCT je ve vztahu k prognóze přežití. Zvýšení PCT po popáleninovém traumatu je časně (již do 8 hod.) a přetrvává řadu dní. Podobně se mění IL-6, zatímco TNF $\alpha$  zůstává nízké. Endotoxin není v iniciální fázi prokazován vůbec [10].

#### **4.5.5. Kardiogenní šok**

PCT se zvyšuje během deletrvajícího kardiogenního šoku. Hladiny nejsou tak vysoké jako u šoku septického a zvyšují se pomaleji. Etiologie zvýšení PCT u oběhového selhání je neznáma. Také zde je uvažována translokace bakteriálních endotoxinů při sníženém prokrvení střev, která vede k aktivaci imunitního systému. Hladiny PCT jsou v relaci k SIRS a jejich pokles znamená vždy zlepšení stavu [10].

#### **4.5.6. Úraz teplem**

Po úrazu teplem dochází ke zvýšení PCT. Nemocní s tímto zvýšením měli překvapivě lepší prognózu než ti, u kterých se PCT nezvyšovalo. Prozatím není žádné vysvětlení tohoto zjištění [8].

#### **4.5.7. Novorozenci**

Koncentrace PCT bezprostředně po narození stoupá. Maxima dosahuje 24 h po porodu v širokém rozmezí  $0,5-21 \mu\text{g/l}$  (medián  $2,0 \mu\text{g/l}$ ). Během 48 h od porodu hladiny PCT klesají pod  $0,5 \mu\text{g/l}$ , tedy do hodnot, které odpovídají referenčním hladinám pro dospělé populaci. Vzestup PCT v prvních hodinách života je nespecifickou reakcí, jejíž fyziologický význam, stejně jako mechanismus indukce, nejsou objasněny. PCT je i u novorozenců pokládán za vysoce

senzitivní ukazatel bakteriální infekce. Při hodnocení nálezu je nicméně třeba respektovat toto odlišné rozmezí normálních hodnot [1]

#### **4.5.8. Celotělové ozáření a transplantace kostní dřeně**

Modelová situace, kterou představuje kombinace intenzivního celotělového ozáření s následnou transplantací kostní dřeně (BMT), integruje komplex reakcí na řadu současně nebo návazně působících podnětů.

Vzestup koncentrace jak PCT, tak cytokinů předchází nejen prvním klinickým projevům iradiace (jako jsou změny v krevním obraze a další), ale předchází dokonce i vlastní BMT. Spouštěcím podnětem jejich syntézy tedy není vlastní transplantace, ale agresivní přípravný režim. PCT kulminuje ve stejné fázi jako časné prozáněťové cytokiny, které ho indukují. BMT představuje složitou situaci, kde se kombinuje několik neinfekčních stimulačních podnětů: vedle opakovaného nebo jednorázového ozáření i chemoterapie, imunosupresivní léčba, vliv podaných transfúzí a v některých případech i latentně probíhající infekce.

PCT je pokládán za specifický ukazatel bakteriální infekce. Nicméně dynamika PCT po ozáření a BMT dokládá, že PCT je indukována i jinými než infekčními faktory. Dosažené koncentrace PCT ale zůstávají na úrovni lehkého až mírného zvýšení s následným rychlým poklesem [1].

#### **4.5.9. Stavy spojené s leukopenií**

Zajímavé je zjištění, že i v aplastické fázi po BMT je zachována schopnost imunitního aparátu tvořit cytokiny a stimulovat syntézu APP a PCT [30].

Leukopenické období, zejména u onkologických pacientů po intenzivní chemoterapii nebo u pacientů v aplastické fázi po transplantaci kostní dřeně, je obdobím vysoce rizikovým z hlediska nástupu infekčních komplikací. Současně je obdobím, kdy selhávají „klasické“ indikátory nástupu infekce typu leukocytózy či horečky. Nalezení vhodného ukazatele počínajícího septického stavu u neutropenických pacientů je zvláště naléhavé.

Sledování dynamiky PCT u těžké leukopenie přispívá i k poznání fyziologických mechanismů regulace PCT. Ukazuje, nakolik se na indukci syntézy záněťového

PCT, event. přímo ne jeho produkci v tomto období, podílí leukocyty, resp. nakolik je syntéza PCT na leukocytech závislá [1].

V studii prof. Lestina [28] bylo prokázáno, že koncentrace PCT se nezměnily ve srovnání s výchozími hodnotami ani u pacientů s těžkou, cytostatiky navozenou leukopenií, pokud nebyly známky infekce. Dále bylo jasně prokázáno zvýšení PCT při rozvoji infekce i u trvalí těžké neutropenie. U lokálních infekcí se PCT pohyboval v řádově nižších koncentracích než u systémové infekce. Je opakovaně potvrzeno, že u pacientů s normální bílou krevetvorbou vede gram-negativní bakteriémie k vyšším hodnotám PCT než gram-pozitivní bakteriémie. Svaldim [25] uváděný poměr 5:1 je podle většiny autorů zhruba zachován i u infekčních pacientů s hodnotami leukocytů pod  $1 \times 10^9/l$ .

Prakticky všechny studie se ale shodují v tom, že vzestup PCT u infekčních pacientů je při současné leukopenii nižší než u pacientů s normální bílou krevetvorbou.

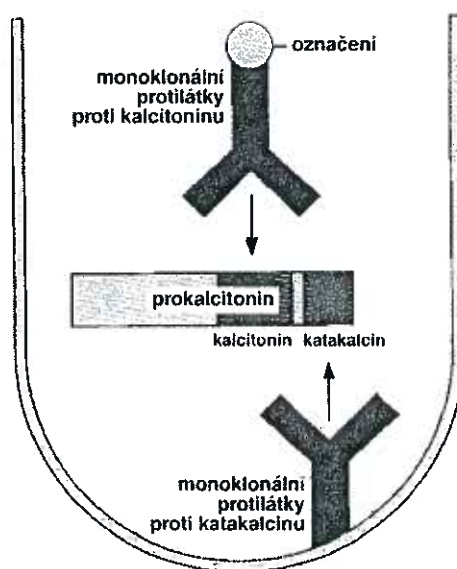
Ve srovnání s dalšími zánětovými parametry vychází predikční hodnota PCT v okamžiku nástupu sepse lépe než CRP,  $TNF\alpha$ , resp. IL-6, ale hůře než IL-8. PCT je vysoce specifický, ale nedostatečně senzitivní marker sepse u neutropenických pacientů, zejména u gram-pozitivní bakteriémie. Z hlediska časových vztahů je dynamika PCT obdobná jako u  $TNF\alpha$  a IL-6 [29].

## 5. Metodika stanovení prokalcitoninu

### 5.1. Kvantitativní stanovení prokalcitoninu

#### 5.1.1. Imunoluminometrická analýza – princip metody

Plazmatický PCT je standardně stanovován imunoluminometrickou analýzou (ILMA). Princip analýzy vychází z dvojice monoklonálních protilátek specifických vůči antigenu, které váží PCT (antigen) na dvou různých vazebných místech (segmenty kalcitoninu a katakalcinu) jsou přidány v nadbytku. Jedna z těchto solubilních protilátek je luminiscenčně označována (indikátor), druhá je fixována na vnitřní straně zkumavek (systém potažené zkumavky) (obr. 2) [17].



Obr. 2. Princip imunoluminometrického stanovení PCT na základě dvojice monoklonálních protilátek

Solubilní značená protilátka se specificky váže na sekvenci kalcitoninu, fixovaná protilátka se váže na antigenní determinantu katakalcinu v molekule prokalcitoninu [1].

Během inkubace reagují obě protilátky s molekulami PCT ve vzorku a dají vzniknout „sandwichovým komplexům“ (protilátka značená – PCT – protilátka fixovaná).

„Sadwichový“ princip dvou protilátek proti rozdílným antigenním strukturám molekuly PCT eliminuje riziko falešné positivity při měření, která by byla způsobena přítomností jiných štěpných produktů.

Množství značené protilátky navázané přes PCT na stěnu zkumavky je po promytí kvantifikováno analýzou luminiscenčního signálu. Intenzita signálu je proporcionální koncentrací PCT ve vyšetřovaném roztoku. Kalibrační křivka je vytvořena s využitím standardů o známé koncentraci PCT, kalibrovaných proti rekombinantnímu lidskému PCT. Naměřená intenzita luminiscenčního signálu je přepočtena pomocí kalibrační křivky na odpovídající plazmatickou koncentraci [1].

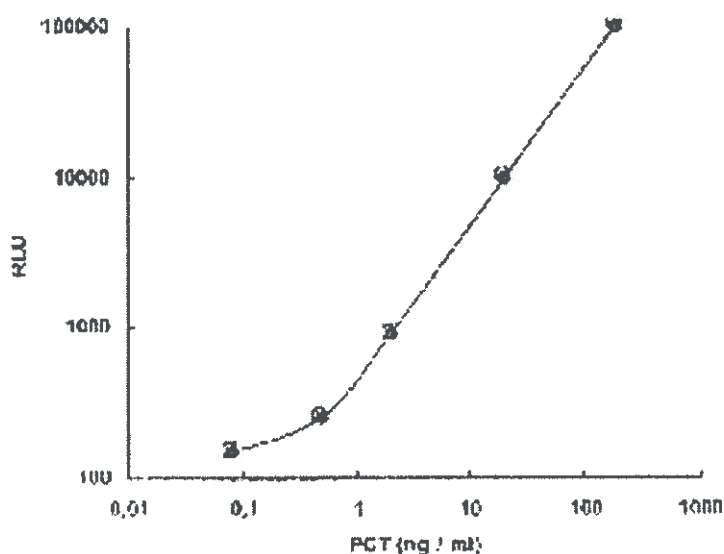
### **5.1.2. Imunoluminometrická analýza - *LUMItest® PCT ILMA BRAHMS***

Komerční set LUMItest® PCT ILMA BRAHMS (výrobce BRAHM Aktiengesellschaft) je určen pro stanovení 100 vzorků. Při započtení 6 standardů a 2 kontrol a měření vzorků v duplikátech to znamená 42 stanovení.

Senzitivita metody je přibližně 0,1 µg/l. Funkční senzitivita (daná 20% inter-assay variačním koeficientem) je přibližně 0,3 µg/l.

Na základě údajů výrobce LUMItest®PCT ILMA BRAHMS metodika neinterferuje s plazmatickými koncentracemi humánního kalcitoninu, katakalcinu, CGRP-1 a II v rozsahu fyziologických koncentrací těchto proteinů. Metodika rovněž není ovlivněna přítomností běžných antibiotik, vazoaktivních látek typu dopaminu a noradrenalinu, ani heparinem, furosemidem a opiáty v terapeutických koncentracích. O interferenci dalších léků s uvedenou metodikou nejsou v současné době dostupné informace.

Naměřené hodnoty luminiscenčního signálu RLU jsou přepočteny na základě standardní křivky (obr. 3) na hmotnostní koncentrace PCT. K přepočtu hodnot je určen firemní software BRAHMS Diagnostika.



Obr. 3. Kalibrační křivka pro výpočet koncentrace prokalcitoninu (PCT) na základě luminiscenčních jednotek (Relative Light Unit, RLU) [1]

### 5.1.3. Imunoluminiscenční metoda - **BRAHMS PCT sensitive LIA**

Imunoluminiscenční metoda (ILMA) slouží k určení hladiny prokalcitoninu (PCT) v lidském séru a plazmě v dolním koncentračním - pikogramovém rozmezí k časně detekci klinicky závažných bakteriálních infekcí.

Analytická sensitivita metody se pohybuje 0,01 ng/ml.

Funkční sensitivita metody – nejmenší naměřená hodnota, jejíž přesnost je zatížena max. 20% rozptylem – činí min. 0,05 ng/ml [17].

### 5.1.4. Imunofluorescenční metoda - **BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR**

BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR je souprava určená pro automatickou detekci PCT v lidském séru nebo plasmě (EDTA, heparin) imunofluorescenčním testem BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR.

Pro svou vysokou citlivost je automatizovaný test v současnosti jediným testem, který je k dispozici pro stanovení diagnózy lokalizovaných bakteriálních infekcí, jako jsou infekce dolního dýchacího traktu.

Analytická citlivost – detekční hranice počítaná za užití profilu přesnosti byla odhadnuta na 0,02 ng/ml (95%).



Funkční citlivost stanovení (20% CV) byla odhadnuta na 0,06 ng/ml [17].

## **5.2. Semikvantitativní stanovení PCT**

### **5.2.1. Imunochromatografická analýza**

Pro rychlé semikvantitativní stanovení PCT je k dispozici metodika *PCT-Q BRAHMS*, která umožňuje jeho rychlé vyšetření v laboratoři nebo u lůžka pacienta. Test je užíván k diagnóze a kontrole postupu léčby vážných bakteriálních infekcí a sepse. PCT-Q je testovací systém s inkubační dobou pouhých 30 minut, jež nezávisí na přístroji, ani nepotřebuje kalibraci.

Test užívá monoklonální myši anti-katakalcinové protilátky konjugované s koloidálním zlatem (indikátor) a polyklonální ovčí anti-kalcitoninové protilátky (pevná fáze).

Po aplikaci pacientova vzorku (sérum nebo plasma) na testovací proužek se indikátor váže na PCT ve vzorku a vytvoří se značkový komplex antigen-protilátka. Tento komplex se kapilární silou pohybuje testovacím systémem a během toho prochází oblastí obsahující testovací pás. Zde se značkovaný komplex antigen-protilátka váže na fixované anti-kalcitoninové protilátky a vytváří „sendvičový“ komplex.

Při koncentraci PCT  $\geq 0,5$  ng/l se tento sendvičový komplex jeví jako červenavý pás. Intenzita barvy pasu je přímo úměrná koncentraci PCT ve vzorku a má vztah k následujícím rozsahům koncentrací za pomoci referenční karty:

$< 0,5$  ng/ml     $\geq 0,5$  ng/ml     $\geq 2$  ng/ml     $\geq 10$  ng/ml

Nevázaný indikátor difunduje do zóny kontrolního pásu, kde se fixuje a vytváří intenzivně zbarvený červený kontrolní pás. Funkční schopnost testovacího systému se prověřuje tímto kontrolním pásem [17].

Souprava obsahuje proužky pro 25 individuálních stanovení. Na rozdíl od předchozí metodiky tak není třeba čekat s vyšetřením na shromáždění potřebného počtu vzorků.

Semikvantitativní analýza PCT je nepříznivě ovlivněná hemolýzou. Lipidy ani bilirubin nemají na měření vliv.

### **5.3. Základní indikace vyšetření PCT**

Za současného stavu znalostí vyplývají následující indikace vyšetření PCT:

- Diferenciální diagnostika zánětových onemocnění a horeček nejasného původu. PCT může podpořit rozlišení syndromu akutní respirační tísně (ARDS) bakteriální a nebakteriální etiologie lépe než např. CRP. Vyšší výpovědní schopnost než u klasických parametrů je rovněž u odlišení aktivity systémového autoimunitního onemocnění, např. systémového lupus erythematodes, od bakteriálních komplikací těchto pacientů nebo v odlišení biliární a toxické pankreatitidy.
- Monitorování kriticky nemocných pacientů. Vysoké nebo rostoucí hladiny podle řady studií svědčí pro bakteriální komplikaci a obecně pro špatnou prognózu pacienta, a naopak rychlý pokles hladiny pro ústup infekce a příznivou prognózu.
- Kontrola terapie a průběhu bakteriálních infekcí a hodnocení jejich prognózy. I když absolutní hodnota PCT nekoreluje přímo se závažností stavu, vývoj hladiny odráží narůstající nebo ustupující imunitní odpověď na infekci.
- Diagnóza bakteriální infekce u imunosuprimovaných pacientů (na cytostatické léčbě, s pancytopenií, po transplantaci kostní dřeně apod.) [1,5].

#### 5.4. Interpretace výsledků

Pro většinu klinických situací lze využít následující tabulku. Je však třeba zdůraznit, že existují specifické situace, ve kterých se PCT chová odlišným způsobem [1].

PCT ( $\mu\text{g/l}$ )	hodnocení	vybrané klinické stavy	poznámka
0-0,5	normální hodnoty	zdravé osoby	nevylučuje lokalizovanou nebo jinou než bakteriální infekci
0,5-2	mírné zvýšení	lokalizovaný infekční zánět, chronicky zánět, virózy (hepatitis A, B)	hodnoty běžné v časném pooperačním období a při těžké renální insuficienci
2-10	vysoké hodnoty	systémová bakteriální infekce, intenzivní SIRS nebakteriálního původu	
10 a více	velmi vysoké hodnoty	těžká sepse, multiorgánové selhání	při těžkých bakteriálních infekcích až 1000 $\mu\text{g/l}$

Tabulka 2. Interpretace nálezů prokalcitoninu

## 6. Role prokalcitoninu v diagnostice bakteriální sepsy

PCT je nový, vysoce specifický ukazatel systémové bakteriální infekce. Našel významné místo v diagnostice a diferenciální diagnostice zánětových stavů. Nejvyšších plasmatických hladin dosahuje PCT u akutních bakteriálních infekcí a při sepsi. Plasmatická hladina PCT se zvyšuje u bakteriálních infekcí s celkovou zánětovou reakcí. Lokální bakteriální záněty, stejně jako opouzdřené abscesy, PCT významně nezvyšují. Zvýšení hladiny je úměrné typu a rozsahu zánětu. (tab. 3) [32].

zdravé osoby	<0,5 µg/l
chronický zánět	0,5-1 µg/l
viróza (hepatitida B)	0,5-2 µg/l
lehká, lokalizovaná bakteriální infekce	0,5-2 µg/l
SIRS	2-10 µg/l
sepsy, multiorgánové selhání	10-1000 µg/l

*Tabulka 3. Hladiny PCT ve vybraných stavech*

V diagnostice zánětových stavů je používána celá řada parametrů – proteiny akutní fáze (APP), cytokiny (zejména IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ), počet leukocytů a jejich subpopulace, neopterin, elastáza, fosfolipáza A a nověji PCT. Každý z těchto parametrů má vlastní specifický profil indukce a vlastní charakteristiku u různých onemocnění. Řada studií srovnávala uvedené zánětové parametry z hlediska jejich diagnostické výtěžnosti u sepsy a systémového zánětu. Ačkoli dosavadní poznatky nejsou ještě zdaleka kompletní, umožňují porovnat specifitu a senzitivitu jednotlivých parametrů v diferenciální diagnostice sepsy versus nebakteriálnímu procesu. Zvláštní pozornosti se těší studie u transplantovaných pacientů, u autoimunitních onemocnění nebo u akutních infekcí v neonatologii. Tedy v situacích, kde často selhávají klasické zánětové ukazatele (horečka, leukocytóza).

Tabulka 4 shrnuje výsledky dosavadních studií sledujících PCT, CRP, IL-6, IL-8 a TNF $\alpha$  v diferenciální diagnostice některých závažných akutních stavů.

Srovnání senzitivity a specifity metodiky k odlišení pacientů s incipientní sepsí od pacientů v SIRS, kteří nesplňují kritéria sepse, vychází nejlépe pro PCT.

Specifita a senzitivita vyšetření CRP jsou srovnatelné s IL-6 [5].

diagnóza	CRP	IL-6	IL-8	TNF $\alpha$	PCT
<b>SIRS</b>	128 $\pm$ 3	269 $\pm$ 22		24 $\pm$ 4	1,29 $\pm$ 0,2
<b>seps</b>	160 $\pm$ 6	435 $\pm$ 52	údaje nejsou k dispozici	51 $\pm$ 9	2,03 $\pm$ 0,5
<b>těžká seps</b>	193 $\pm$ 11	69 $\pm$ 168		59 $\pm$ 17	8,71 $\pm$ 2,5
<b>septický šok</b>	160 $\pm$ 6	996 $\pm$ 57		118 $\pm$ 18	38,6 $\pm$ 5,9
<b>seps - přeživší</b>	23 $\pm$ 65	434 $\pm$ 198	údaje nejsou k dispozici	38 $\pm$ 16	4,9 $\pm$ 2,9
<b>seps - nepřeživší</b>	245 $\pm$ 72	443 $\pm$ 178		42 $\pm$ 21	13,8 $\pm$ 8,9
<b>pankreatitida toxická</b>	96,6 $\pm$ 97,5	645 $\pm$ 792	údaje nejsou k dispozici	údaje nejsou k dispozici	0,39 $\pm$ 0,38
<b>pankreatitida biliární</b>	173 $\pm$ 126	723 $\pm$ 848			60,8 $\pm$ 136
<b>ARDS neinfekční etiologie</b>	180 $\pm$ 146	704 $\pm$ 789	údaje nejsou k dispozici	údaje nejsou k dispozici	0,6 $\pm$ 0,95
<b>ARDS infekční etiologie</b>	179 $\pm$ 122	856 $\pm$ 890			36,6 $\pm$ 31
<b>infekce moč. cest</b>	30,3 $\pm$ 7,6	údaje nejsou k dispozici	údaje nejsou k dispozici	údaje nejsou k dispozici	0,38 $\pm$ 0,19
<b>pyelonefritida</b>	120 $\pm$ 8,9				5,37 $\pm$ 1,9
<b>bakteriální pneumonie</b>	údaje nejsou k dispozici	10 $\pm$ 13	údaje nejsou k dispozici	32 $\pm$ 17	2,4 $\pm$ 37
<b>kardiogenní šok</b>		78 $\pm$ 74		11 $\pm$ 13	1,4 $\pm$ 1,9
<b>septický šok</b>		385 $\pm$ 251		108 $\pm$ 132	96 $\pm$ 181

Tabulka 4. Změny některých zánětových parametrů u vybraných onemocnění [5]

C-reaktivní protein (CRP), interleukin 6, 8 (IL-6 IL-8), tumor nekrotizující faktor alfa (TNF $\alpha$ ), prokalcitonin (PCT), syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS), syndrom respirační tísně dospělých (ARDS)

## 7. Porovnání prokalcitoninu s dalšími zánětlivými parametry

PCT se odlišuje od APP a dalších používaných plasmatických ukazatelů zánětu v několika směrech. PCT je vysoce selektivní vůči systémovému bakteriálnímu zánětu. Operační trauma, virové záněty nebo autoimunní procesy, které nespecificky zvyšují hladiny uvedených cytokinů stejně jako CRP a dalších APP, nemají na dynamiku PCT významnější vliv.

Hladina PCT je podobně jako u APP a cytokinů úměrná rozsahu imunitní reakce. Cytokiny u septických pacientů mají velmi rychlý nástup po vypuknutí infekce (1 – 3 hodiny) a po odeznění akutní fáze se rychle vracejí k normě (3-6 hodin)[5]. Začátek zvýšení CRP je poněkud pomalejší než u PCT (rozdíl v hodinách); kinetika CRP je tedy pomalejší než PCT, plasmatický poločas je u obou reaktantů 24 hodin, ale produkce CRP v játrech přetrvává po odeznění zánětlivého podnětu více dní. U těžkých infekcí, sepse a MODS reaguje CRP citlivěji, ale méně specificky než PCT. Hodnoty mohou zůstat zvýšeny po dlouhou dobu. Při diagnostice a sledování septických stavů z hlediska specifity i senzitivity jsou potvrzovány výhody PCT nejen oproti CRP, ale i oproti ostatním reaktantům akutní fáze [8]. V některých případech ale nerovnováha mezi časnými prozánětovými a protizánětovými cytokiny může vést k situaci, že i těžký septický stav není nutně doprovázen vzestupem TNF nebo IL-6. Tato časná down-regulace během akutního zánětu nebyla zjištěna u PCT [31].

Z praktického hlediska je důležitá i stabilita PCT *ex vivo* v odebraném vzorku krve. Na rozdíl od stanovení cytokinů plasma nemusí být okamžitě zmrazená. Vzorek tak může být zpracován současně se stanovením rutinních laboratorních parametrů.

## **7.1. Srovnání proteinů akutní fáze, cytokinů a prokalcitoninu z hlediska diagnostického a ekonomického**

Od optimálního zánětového ukazatele, vhodného pro rutinní stanovení a vyhovujícího jak z hlediska diagnostického tak i ekonomického, očekáváme následující vlastnosti:

- vysokou senzitivitu a specifitu
- možnost statimového stanovení
- cenovou dostupnost
- snadnou interpretaci výsledků

Žádný dostupný parametr však tato kritéria nesplňuje. Volbu konkrétní vyšetřovací metody pak musí lékař zvážit s ohledem na daného pacienta, uvažovanou zánětovou diagnózu a doprovodná onemocnění (leukopenie, pooperační období). Rozvaha tedy vychází z porovnání kladů a záporu, které nabízené analyty klinikovi přinášejí (tab. 5) [5].

Doporučení, které často zaznívá od autorů klinických studií je souběžné vyšetření APP s dalšími parametry – PCT, IL-8 aj. – zvyšuje jejich diagnostickou výtěžnost i prognostickou hodnotu. Sériové stanovení APP v kombinaci s dalšími uvedenými parametry je diagnosticky nejpřínosnější, ale současně natolik ekonomicky náročné, že zůstane vždy vyhrazeno pouze pro monitorování vysoce rizikových pacientů na transplantačních jednotkách, na ARO, pacientů po polytraumatech nebo po rozsáhlých komplikovaných chirurgických výkonech [5].

klady	zápory
<b>Proteiny akutní fáze (APP)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• nízká cena</li> <li>• dostupnost</li> <li>• komplexní obraz zánětového i nutričního stavu pacienta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vysoká senzitivita, ale nízká specificita- nutnost sériového stanovení</li> <li>• časové prodlení (reaktanty druhého sledu, navazující na cytokinovou kaskádu)</li> </ul>
<b>Cytokiny, solubilní cytokinové receptory</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• reaktanty prvního sledu, o 6 až 24h předcházejí další diagnostické ukazatele</li> <li>• vysoká senzitivita</li> <li>• informace o rovnováze SIRS/CARS, <math>T_{H1}</math>/<math>T_{H2}</math> odpovědi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vysoká cena</li> <li>• statimové stanovení jen na specializovaných pracovištích</li> <li>• nízká specificita</li> <li>• nároky na uchování vzorků</li> <li>• obtížná interpretace nálezu</li> </ul>
<b>Prokalcitonin</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ukazatel systémové bakteriální infekce s vysokou specificitou a dostatečnou senzitivitou</li> <li>• možnost semikvantitativního stanovení u lůžka pacienta</li> <li>• nenáročný na uchování a rychlost zpracování vzorků</li> <li>• snadná interpretace výsledků</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• cena stanovení srovnatelná s cytokiny</li> <li>• infekční marker „druhého sledu“, navazující na reakci prozánětových cytokinů</li> <li>• nízká senzitivita k ohraničeným bakteriálním zánětům</li> </ul>

*Tabulka 5. Srovnání proteinů akutní fáze (APP), cytokinů a prokalcitoninu z hlediska diagnostiky*

*Syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS), syndrom kompenzatorní protizánětové odpovědi (CARS), pomocné (helper) T lymfocyty ( $T_{H1}$ ,  $T_{H2}$ )*



## 8. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shromáždit dostupné informace o prokalcitoninu a ověřit poznatek, že prokalcitonin je vysoce specifický ukazatel bakteriální infekce. Dále je v práci srovnáván prokalcitonin s dalšími zánětlivými markery v jejich specifitě a senzitivitě.

Ve všech použitých literárních zdrojích se autoři jednomyslně shodují na tom, že PCT se odlišuje od APP a dalších používaných plasmatických ukazatelů zánětu v několika směrech. Prokalcitonin je vysoce selektivní vůči systémovému bakteriálnímu zánětu. Operační trauma, virové záněty nebo autoimunní procesy, které nespecificky zvyšují hladiny zánětlivých cytokinů, C-reaktivního proteinu a dalších APP, nemají na dynamiku PCT významnější vliv.

Pro stanovení referenčních mezí prokalcitoninu nám korespondují následující hodnoty s vybranými klinickými stavy. U zdravé osoby je hladina prokalcitoninu v plazmě nižší než 0,5 µg/l, u virových infekcí se pohybuje od 0,5 do 2 µg/l, stejné hladiny dosahuje u lehké, lokalizované bakteriální infekce. U SIRS se drží mezi 2 až 10 µg/l. U septických pacientů či při multiorgánovém selhání přesahují hladiny 10 µg/l a mohou dosahovat až 1000 µg/l.

## 9. Literatura

1. MARUNA, P.: *Prokalcitonin*. 1. vyd. Praha: Triton, 2003. 140 s. ISBN80-7254-410-1.
2. ZÁVADA, J.: *Syndrom multiorgánové dysfunkce*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001. 254 s. ISBN80-7169-781-8.
3. MURRAY, M., COURSIN, D. et al.: *Critical Care Medicine*. 2. vyd. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2002. 905 s. ISBN0-7817-2968-8.
4. ŠEVČÍK, P., ČERNÝ, V. et al.: *Intenzivní medicína*. 1. vyd. Praha: Galén, 2000. 393 s. ISBN80-7262-042-8.
5. MARUNA, P.: *Proteiny akutní fáze*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2004. 282 s. ISBN80-85912-05-8.
6. SILBERNAGL, S., LANG, F.: *Atlas patofyziologie člověka*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001. 390 s. ISBN80-7169-968-3.
7. NOVÁK, I. et al.: *Intenzivní péče v pediatrii*. 1. vyd. Praha: Galén, 2008. 579 s. ISBN987-80-7262-512-3.
8. ZIMA, T. et al.: *Laboratorní diagnostika*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. s. 533-539. ISBN987-80-246-1423-6.
9. PRŮCHA, M., ZAZULA, R., HYÁNEK, J.: Prokalcitonin – senzitivní a specifický parametr těžkého bakteriálního zánětu. *Anesteziologie a neodkladná péče.*, 2002, roč. 13, č. 2, s. 83-85.
10. KAZDA, A., BRODSKÁ H. et al.: Prokalcitonin u akutních pankreatitid a v septických stavech. *Klin. Bioch. Metab.*, 2002, roč. 10/31, č. 1, s. 32-37.
11. MIHÁL, V.: Význam proteinů akutní fáze a neutrofilních granulocytů při diagnostice bakteriálního zánětu. *Pediatric pro praxi.*, 2001, roč. 2, č. 5, s. 213-216.
12. MARUNA, P., GÜRLICH, R.: Zánětový prokalcitonin – prohormon s potenciální analgetickou aktivitou. *Bolest.*, 2003, roč. 6, č. 2, s. 50-54.

13. PRŮCHA, M. et al.: Srovnání prokalcitoninu, interleukinu-6 a C-reaktivního proteinu v diferenciální diagnostice pacientů JIP se syndromem sepse. *Vnitř. Lék.*, 2003, roč. 49, č. 7, s. 541 - 547.
14. KAZDA, A., BRODSKÁ H. et al.: Prokalcitonin u kriticky nemocných. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, roč. 13/34, č. 1, s. 4–9.
15. HUSOVÁ, L., HUSA, P., SENKYŘÍK, M., LATA, J.: Prokalcitonin jako indikátor infekce u pacientů s jaterní cirhózou. *Vnitř. Lék.*, 2004, roč. 50, č. 2, s. 153-156.
16. ZAZULA, R., PRŮCHA, M., SPÁLENÝ, A., JAREŠOVÁ, M., VÍTKO, Š.: Prokalcitonin nejen v diferenciální diagnostice zánětlivé odpovědi organismu. *Anesteziologie a neodkladná péče.*, 2002, roč. 13, č. 2, s. 86-91.
17. B.R.A.H.M.S Aktiengesellschaft: [online]. *PCT @ Sepsis*. 2008 [cit. 2008-07-26]. Dostupný z WWW:  
[http://www.procalcitonin.com/default.aspx?tree= 2\\_0&key=intro1](http://www.procalcitonin.com/default.aspx?tree= 2_0&key=intro1).
18. TILLET, W. S., FRANCIS, T.: Serological reactions in pneumonia with non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.*, 1930, roč. 52, s. 561. Převzato z Mihál V., 2001.
19. PHILIP, A. G. S., HEWITT, J. R.: Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics.*, 1980, roč. 65, s. 1036. Převzato z Mihál V., 2001.
20. CHRISTENSEN, R. D., BRADLEY, P. P., ROTHSTEIN, G.: The leukocytes left shift in clinical and experimental neonatal sepsis. *J. Pediatr.*, 1981, roč. 98, s. 101. Převzato z Mihál V., 2001.
21. ZÁHOREC, R.: Diagnostika a monitorovanie septického syndrómu – laboratorne skóre imunitnej zápalovej odpovede. *Anesteziol. neodkl. Péče.*, 2001, Suppl. 1, roč. 12, s. 16-23.
22. RHODES, A., NEWMAN, P. J., BENNET, E. D.: Prognostic markers in sepsis. In: J.-L. Vincent, ed. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. 1. vyd. Berlin: Springer, 1998. s. 238-244. Převzato z Kazda A. et al., 2002.

23. GÜRLICH, R., MARUNA, P., ČERMÁK, J.: Význam cytokinů pro časnou diagnostiku pooperační nitrobřišní sepse. *Rozhl. Chir.*, 1998, roč. 77, s. 146-149.
24. BRUCKER, A.: Einfluss von Procalcitonin auf die Stimulation von Zytokinen, cycloAMP und Eicosanoiden in ausgewählten ex-vivo und in-vitro Modellen. FAU, Erlangen-Nürnberg, 1999. Převzato z Maruna P., 2003.
25. SVALDI, M., HILBER, J., et al.: Procalcitonin-reduced sensitivity and specificity in heavily leukopenic and immunosuppressed patients. *Br J Haematol.*, 2001, roč. 115, s. 53-57. Převzato z Maruna P., 2003.
26. MULLER, B., WHITE, J. C., et al.: Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2001, roč. 86, s. 396-404. Převzato z Maruna P., 2003.
27. ASSICOT, M., GENDREL, D., et al.: High serum procalcitonin concentrations in patient with sepsis and infection. *Lancet.*, 1993, roč. 341, s. 515-518. Převzato z Maruna P., 2004.
28. LESTIN, F., LESTIN, H. G., et al.: Vorläufige Erfahrungen mit Procalcitonin, CRP, Neopterin, ausgewählten Zytokinen und Hämostaseparametern an Patient mit malignen hämatologischen Erkrankungen, bei zytostatikainduzierter Neutropenie und Fieber. Hämostase und Entzündung. Hrsg O. Anders, J. Jacob Weller-Verlag, Neckargemünd, 1998. Převzato z Maruna P., 2003.
29. RUOKONEN, E., NOUSIANEN, T., et al.: Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 1999, roč. 18, s. 283-285. Převzato z Maruna P., 2003.
30. STEFFEN, M., DURKEN, M., et al.: Serum interleukin-6 levels during bone marrow transplantation: impact on transplant related toxicity and engraftment. *Bone Marrow Transplant.*, 1996, roč. 18, s. 301-307. Převzato z Maruna P., 2003.
31. BITKOVER, CY, HANSON, LO, et al.: Effects of cardiac surgery on some clinically used inflammation markers and procalcitonin. *Scand cardiovasc J*, 2000, roč. 34, s. 307-314. Převzato z Maruna P., 2004.

32. MEISNER, M., TSCHAIKOWSKY, K., et al.: Comparison of procalcitonin and C-reactive protein plasma concentrations at different SOF: A scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care*, 1999, roč. 3, s. 45-50.  
Převzato z Maruna P., 2004.

33. DRÁBKOVÁ, J.: Budeme mít účinnou antiinfekční prevenci a léčbu pro intenzivní medicínu v budoucnosti? Zvládneme MRSA nápor? *Referátový výběr anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicína*, 2008, č. 2, s. 124-129.

34. CONLON, J.M., GRIMELIUS, L., et al.: Structural characterization of a high-molecular-mass form of calcitonin [procalcitonin-(60-116)-peptide] and its corresponding N-terminal flanking peptide [procalcitonin-(1-57)-peptide] in a human medullary thyroid carcinoma. *Biochem J.*, 1988, roč. 256, s. 245-250.  
Převzato z Maruna P., 2003.