

Czy oznaczanie stężenia prokalcytoniny u noworodków ma sens, czyli jak ją wykorzystać w neonatologii?

Agnieszka Kordek
Klinika Patologii Noworodka PUM

Prokalcytonina w neonatologii – od 24 lat !

n Pierwsze doniesienie u noworodków:

Assicot M., Gendrel D., Carsin H., et al.:

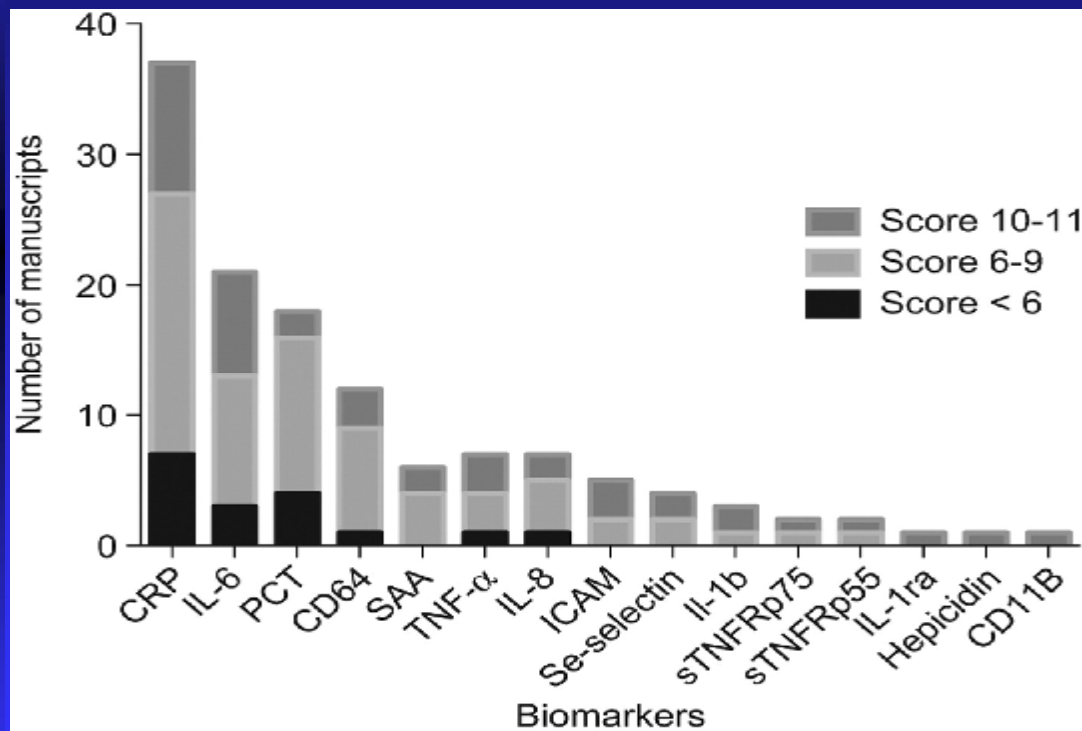
*High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection.
Lancet 1993.*

- n W grupie badanej były 22 noworodki do 10 doby życia.
- n Zaobserwowano znaczący wzrost stężenia PCT we krwi dzieci z bakteryjnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych w porównaniu z zapaleniem wirusowym lub bez zapalenia.
- n Zaobserwowano gwałtowne obniżanie się stężenia PCT pod wpływem leczenia antybiotykami (2-6 dni).

Cechy idealnego markera stanu zapalnego:

- n Tani
- n Powszechnie dostępny
- n 100% czułości (zdolność wykrycia choroby)
- n 100% swoistości (zdolność wykluczenia choroby)

Nie znamy idealnego markera dla rozpoznawania zakażenia w jego wczesnej fazie

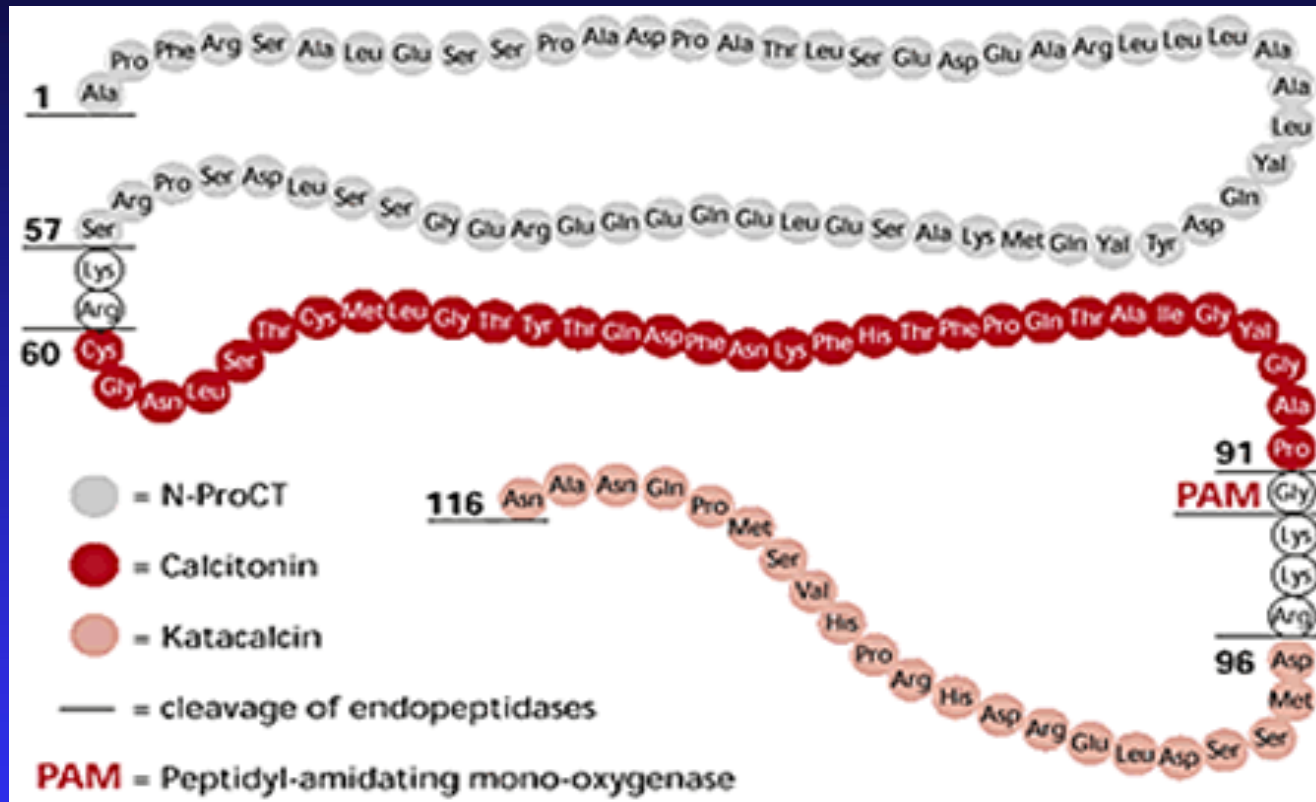


Hedegaard i wsp. Diagnostic utility of biomarkers for neonatal sepsis – a systematic review. Infectious Diseases 2015; 47: 117-124

Budowa cząsteczki prokalcytoniny

- n struktura znana od 1984 roku
- n 116 aminokwasów
- n masa cząsteczkowa ok. 13 kDa
- n budowa wykrywanej w osoczu „zapalnej” PCT jest identyczna z PCT produkowaną przez komórki C tarczycy
- n prohormon kalcytoniny
- n nie wykazuje żadnych właściwości hormonalnych
- n kodowana przez gen CALC-1, zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 11

Budowa cząsteczki prokalcytoniny



n Schemat przedstawiający sekwencję aminokwasów w cząsteczce PCT

(wg Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, et al. The complete sequence of human preprocalcitonin. FEBS 1984; 167:93-97)

- n W warunkach prawidłowego metabolizmu prokalcytonina jest produkowana i wydzielana w komórkach C-tarczycy
- n Cząsteczka PCT ulega wewnątrzkomórkowo specyficznej proteolizie, w wyniku której powstaje hormonalnie aktywna kalcytonina
- n Fizjologicznie praktycznie cała PCT zostaje „pocięta” i przekształcona w kalcytoninę – nie przechodzi do krążenia
- n W ciężkich bakteryjnych zakażeniach i sepsach we krwi znajduje się jednak PCT tzw. „zapalna”, która produkowana jest głównie przez: monocyty, hepatocyty, a także prawdopodobnie przez komórki płuc, jelit, jąder, nerek, prostaty, mięśni i in.

n Stężenie PCT wzrasta we krwi w takich stanach jak:

- ciężkie uszkodzenia tkanek
- rozległe zabiegi chirurgiczne
- wstrząs oparzeniowy
- przedłużone krążenie pozaustrojowe
- choroby nowotworowe
- zaburzenia autoimmunologiczne
- po przeszczepach narządów
- a głównie w sepsach bakteryjnych

n

Produkcja PCT podczas zapalenia jest stymulowana działaniem endotoksyn bakteryjnych i cytokin zapalnych również u osób po całkowitej tyreoidektomii

n

Zaobserwowano gwałtowny wzrost stężenia PCT u ochotników po egzogennym podaniu endotoksyny

(Dandona P, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. J Clin Endocrinol Metab 1994)

n

Zaobserwowano wzrost stężenia PCT po podaniu TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6

(Nijsten MW, et al. In vitro and in vivo stimulation of procalcitonin by TNF-alfa and IL-6. J. Anesth. Intensivbehandl. 2001)

Czym jest prokalcytonina i do czego służy?

- n Jest białkiem ostrej fazy - produkcja w wątrobie w odpowiedzi na stymulację cytokinami i toksynami bakteryjnymi
- n Jest cytokiną
- n Niektórzy badacze sugerują, że PCT jest nie tylko markerem, ale i wtórnym mediatorem reakcji zapalnej, może ją nasilać lub ograniczać, ale jej nie inicjuje

(Whang KT, et al. Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. Shock 2000;

Monneret G, et al. Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced TNF production by human circulating blood cells. Cytokine 2000)

n Stwierdzono wzrost śmiertelności wraz ze wzrostem stężenia PCTco sugeruje, że PCT należy do najważniejszych markerów ciężkości uogólnionego zakażenia oraz jest predyktorem śmiertelności, stanowi integralną część procesów zapalnych i bezpośrednio wpływa na przeżycie

(Nylen ES, et al. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. Crit. Care Med. 1998)

n Utrzymujący się wysoki poziom PCT stanowi złą prognozę, natomiast szybki jego spadek wiąże się z dobrym rokowaniem

(Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, et al.: Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001)

Obecnie:

- n Regulacja syntezy,
- n miejsce produkcji,
- n mechanizm uwalniania „zapalnej” PCT do krążenia nie są ostatecznie poznane

Rekomendowane wartości referencyjne stężeń PCT u ludzi powyżej 4 doby życia wynoszą:

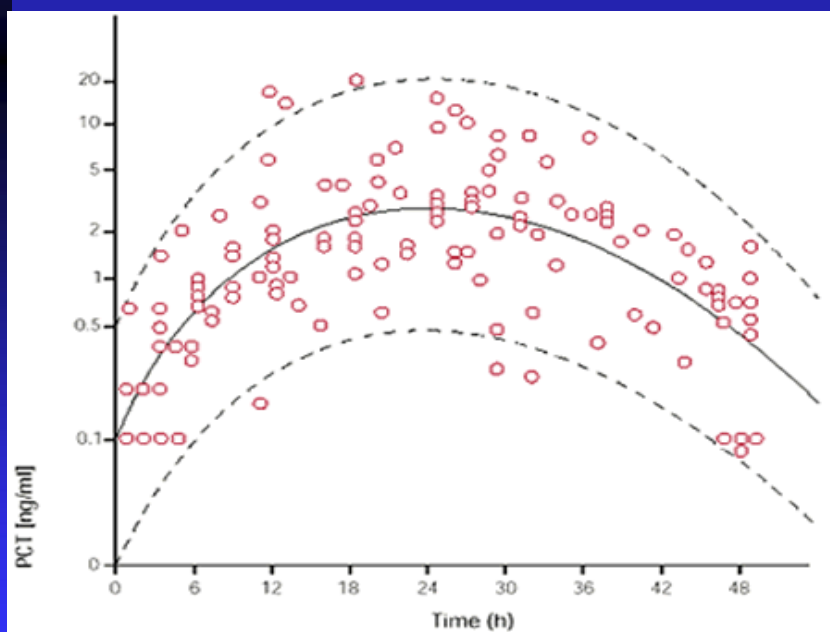
- zdrowi < 0,5 ng/mL
- przewlekłe zakażenia < 0,5 ng/mL
- choroby autoimmunologiczne < 0,5 ng/mL
- infekcje wirusowe < 0,5 ng/mL
- infekcje bakteryjne zlokalizowane < 0,5 ng/mL
- SIRS, liczne urazy, oparzenia < 0,5 – 2 ng/mL
- ostre infekcje bakteryjne, sepsa > 2 ng/mL

(zwykle 10 – 100, nawet > 1000)

Prokalcytonina w neonatologii

n

U noworodków zarówno zdrowych, jak i chorych, zauważono niewyjaśniony dotąd wzrost stężenia PCT we krwi w ciągu pierwszych 24 godzin życia, a następnie stopniowy spadek do wartości wyjściowych do końca drugiej doby



83 zdrowe noworodki

n Chiesa C, Panero A, Rossi N, et al.

Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. Clin Infect Dis 1998

Prokalcytonina w neonatologii

n Chiesa i wsp. na podstawie przedstawionych badań podali zakresy referencyjne stężenia PCT u zdrowych noworodków

<u>n</u>	<u>Godziny życia</u>	<u>PCT (ng/mL)</u>
	0–6	2
	6–12	8
	12–18	15
	<u>18–30</u>	<u>21</u>
	30–36	15
	36–42	8
	42–48	2

Prokalcytonina w neonatologii

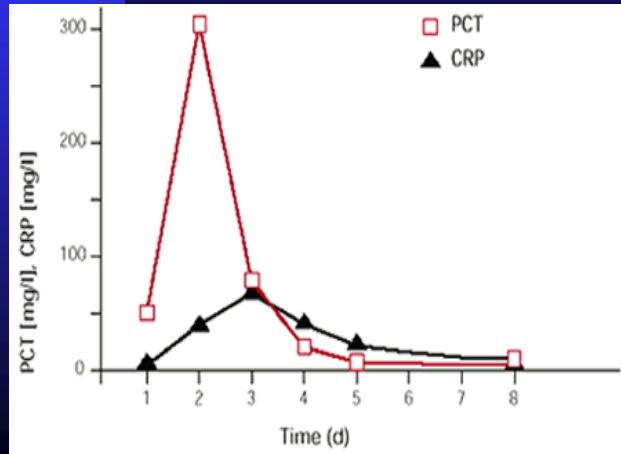
- n Przyczyna i mechanizm tego fizjologicznego wzrostu PCT po urodzeniu nie są znane (Może reakcja ostrej fazy na skutek stresu porodowego? Analogicznie do wzrostu cytokin prozapalnych, CRP, SAA?)
- n Stwierdzono u niezakażonych noworodków korelację między stężeniem PCT a poporodową utratą masy ciała. Sugeruje to wpływ parametrów stanu zapalnego na procesy kataboliczne u dziecka

(Marchini G, Berggren V, Djilali-Merzoug R. The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. Acta Paediatr 2000)

Prokalcytonina w neonatologii

- n Fakt pourodzeniowego fizjologicznego wzrostu stężenia PCT stwarza konieczność uwzględniania wieku w ocenie uzyskanych wyników u noworodków

Prokalcytonina w neonatologii

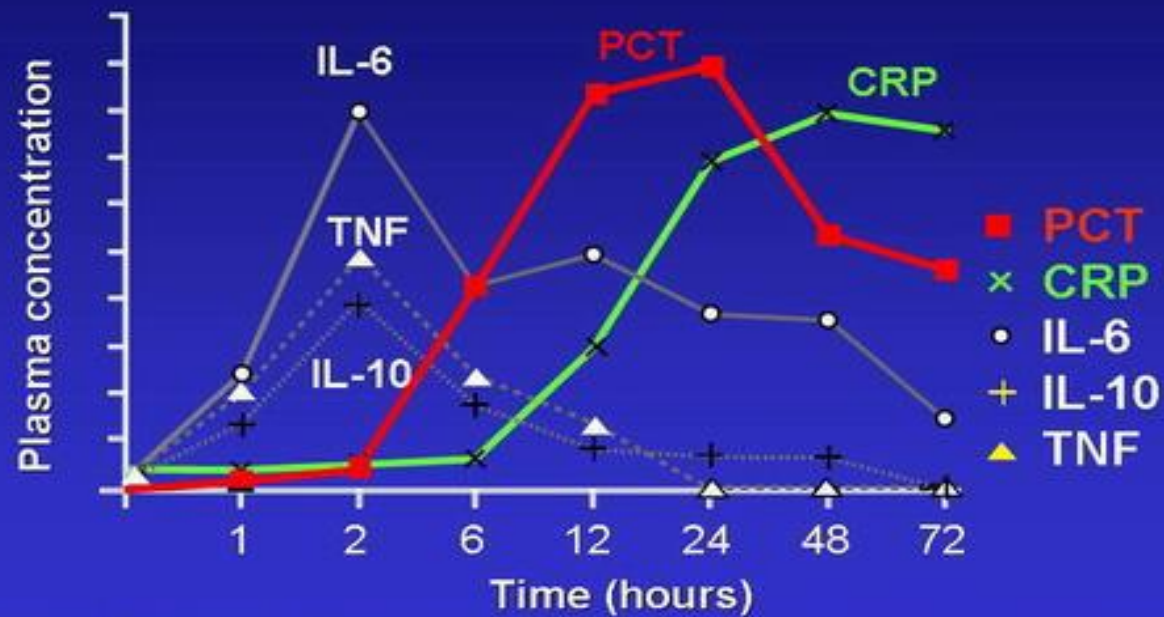


Porównanie kinetyki PCT i CRP we krwi noworodka z zakażeniem *St. epidermidis*.

Monneret G et al. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. Acta Paediatr 1997.

n Stężenie PCT narasta szybko po zadziałaniu czynnika zakaźnego (endotoksyny) – od 2 do 4 h, osiąga plateau po 6 h i obniża się stopniowo do wartości wyjściowych po 24 h, jeżeli działanie endotoksyny ustało (*Dandona P, et al. J Clin Endocrinol Metab 1994*)

Kinetics of biomarkers in sepsis



nCzas narastania stężenia CRP wynosi od 8-12 do około 48 h od momentu zakażenia, natomiast IL-6 osiąga szczytowe stężenie nawet w ciągu godziny od zachorowania i szybko opada

Kiedy warto oznaczyć stężenie PCT?

ü Podejrzewając zakażenie wrodzone:

- we krwi pępowinowej
- we krwi obwodowej w określonych odstępach czasu (np. w 6, 12, 24 godzinie życia) lub przy pierwszych niepokojących objawach sugerujących zakażenie wrodzone

ü Podejrzewając zakażenie szpitalne

ü Różnicowanie infekcyjnego i nieinfekcyjnego tła zaburzeń (sepsa vs SIRS)

ü Ocena nasilenia procesu zapalnego

ü Monitorowanie skuteczności leczenia

ü Podjęcie decyzji o zakończeniu leczenia antybiotykiem

Przypadek 1

Noworodek urodzony w 32 tyg. ciąży, PROM, cięcie cesarskie z powodu zagrożenia płodu, matka leczyła z użyciem antybiotyku od tygodnia – posiewy jałowe, konieczna wentylacja nieinwazyjna, FiO₂ 50%, trudności z termoregulacją i krążeniem obwodowym

Krew pępowinowa:

n CRP 2,1 mg/l	→	bez zakażenia
n IL-6 180 pg/ml	→	zakażenie ?
n <u>PCT 5.34 ng/ml</u>	→	zakażenie wrodzone

Krew żylna po 6 godzinach:

• CRP 26,5 mg/l	→	zakażenie wrodzone ?
• IL-6 35 pg/ml	→	bez zakażenia ?
• <u>PCT 35,8 ng/ml</u>	→	zakażenie wrodzone

Przypadek 2

Noworodek urodzony w 35 tyg. ciąży, PROM, odchodzenie wód płodowych powyżej 18 godzin, cięcie cesarskie z powodu zagrożenia płodu, wywiad w kierunku zakażenia nieobciążony

- U noworodka obserwuje się bezdech, zapotrzebowanie na tlen > 30%, wymaga nCPAP, toleruje żywienie enteralne

Krew żylna w 24 godzinie życia:

n CRP 25 mg/l	→	zakażenie wrodzone ?
n IL-6 30 pg/ml	→	zakażenie wrodzone ?
n <u>PCT 4,35 ng/ml</u>	→	zakażenie wrodzone ?

Krew żylna w 30 godzinie życia:

• CRP 26,5 mg/l	→	Rozpoznano TTN, nie podano antybiotyku, poprawa kliniczna w kolejnej dobie
• IL-6 7,0 pg/ml		
• <u>PCT 3,8 ng/ml</u>		

Przypadek 3

Noworodek urodzony w 34 tyg. ciąży, IUGR < 5 centyla, cięcie cesarskie z powodu zagrożenia płodu, wywiad w kierunku zakażenia nieobciążony, bez leczenia antybiotykami

- Obecnie w 13 dobie życia, od kilkunastu godzin pojawiły się bezdechy, 2 razy ułał, nie wybudza się do karmień, „marmurek” na skórze, hyperglikemia

Krew żylna :

n CRP 7,0 mg/l	→	zakażenie ?
n IL-6 37 pg/ml	→	zakażenie ?
n <u>PCT 2,25 ng/ml</u>	→	zakażenie szpitalne

Krew żylna po 12 godzinach leczenia antybiotykami:

• CRP 56,5 mg/l	→	Rozpoznano sepsę, dodatni posiew krwi (MRCNS), poprawa kliniczna w kolejnej dobie
• IL-6 7,0 pg/ml		
• <u>PCT 1,8 ng/ml</u>		

Wyniki badań:

- n Czulość i swoistość metody w rozpoznawaniu zakażeń jest różna w zależności od przyjętego tzw. cut-off point czyli punktu odcięcia:

Wyniki badań własnych: *krwę pępowinowa*

n Dla PCT we krwi pępowinowej 1.22 ng/mL
SE% 80 SP% 72 PPV% 35 NPV% 95 LR 2.8

n Dla CRP we krwi pępowinowej 1.0 mg/L
SE% 74 SP% 78 PPV% 39 NPV% 94 LR 3.35

Wyniki badań własnych:

krw żylna noworodków

PCT:

<48 h dla 5.33 ng/mL SE=68% SP=83 ↓ PPV=70 NPV=82 LR=4.04

>48 h dla 2.06 ng/mL SE=76% SP=81 PPV=62 NPV=89 LR=3.92

CRP:

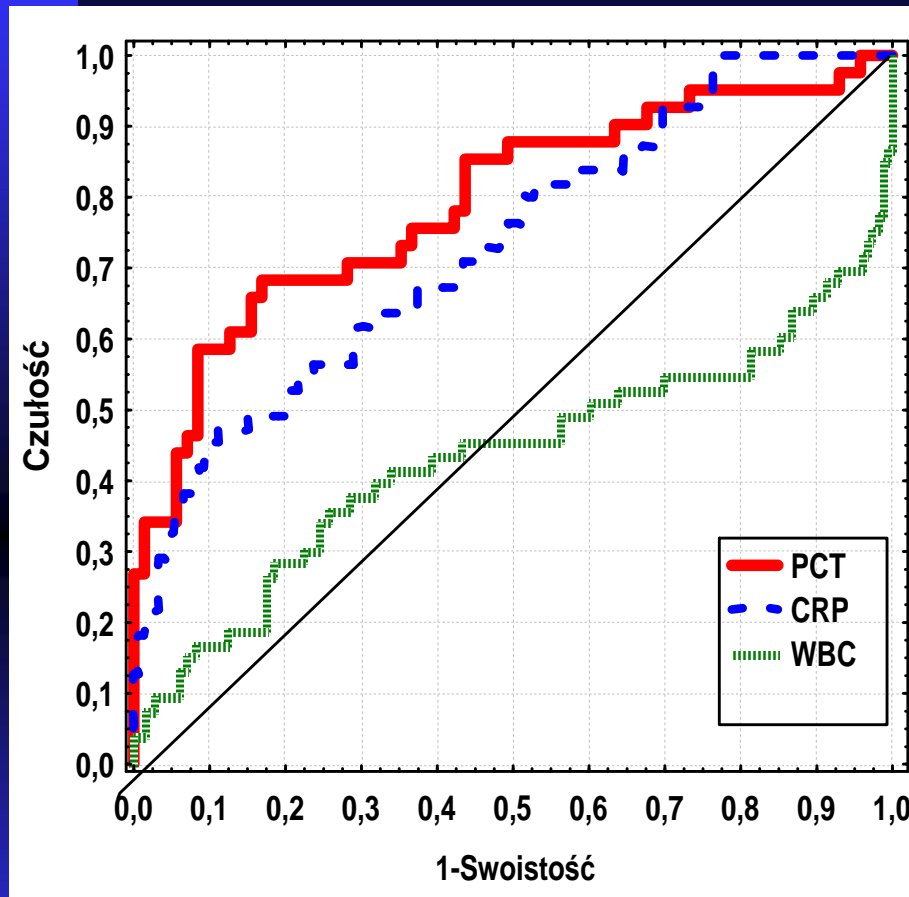
<48 h dla 9.3 mg/L SE=47 SP=89 PPV=60 NPV=82 LR=4.23

>48 h dla 5.0 mg/L SE=67 SP=74 PPV=42 NPV=89 LR=2.56

Prokalcytonina w neonatologii: *(badania własne)*

Stan kliniczny	Krew pępowinowa		Krew żylna	
	PCT	CRP	PCT	CRP
Zakażenie wrodzone uogólnione	↑↑↑	↑↑	↑↑↑	↑↑
Zakażenie szpitalne uogólnione			↑↑↑	↑↑
Monitorowanie leczenia wrodzonego i szpitalnego zakażenia uogólnionego			↑↑↑	↑↑

Wyniki badań własnych:



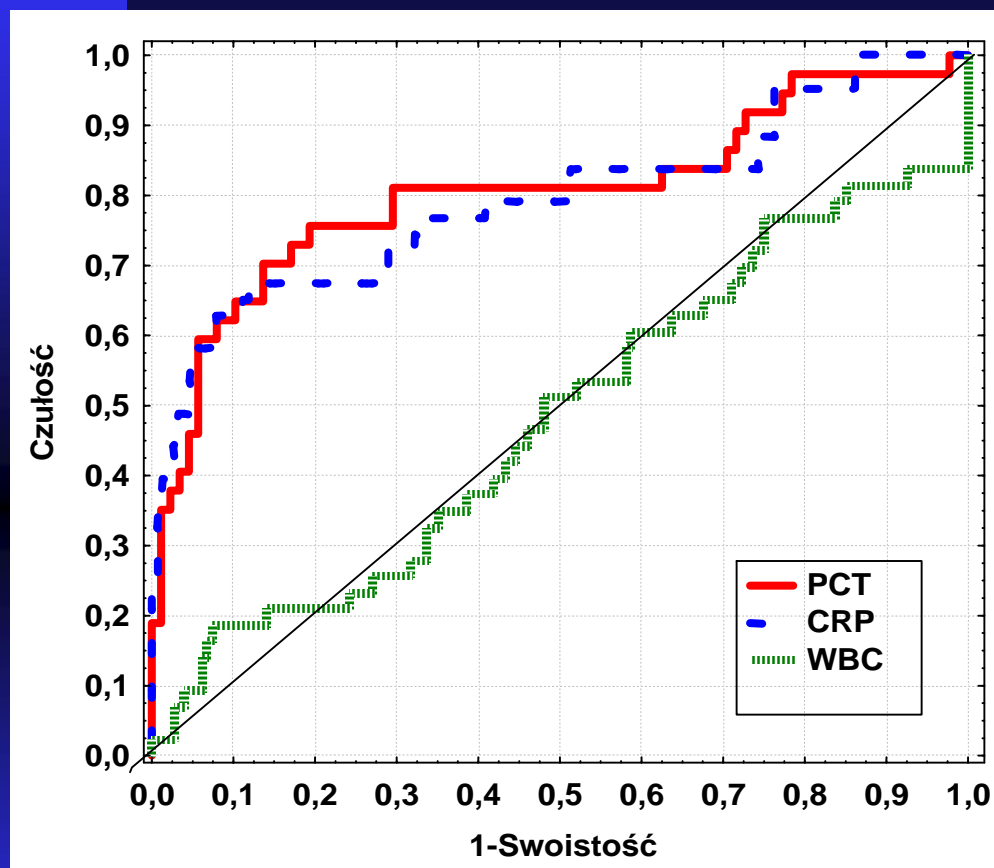
ROC - Graficzne porównanie przydatności PCT, CRP i WBC we krwi żyłnej w rozpoznawaniu zakażenia wrodzonego uogólnionego u noworodków

AUC dla PCT > 5,33 ng/mL - 0,792

AUC dla CRP > 9,3 mg/L - 0,738

AUC dla WBC > 14,9 G/L - 0,439

Wyniki badań własnych:



ROC - Graficzne porównanie przydatności PCT, CRP i WBC we krwi żyłnej w rozpoznawaniu zakażenia szpitalnego uogólnionego u noworodków

AUC dla PCT > 2.06 ng/mL - 0,805

AUC dla CRP > 5.0 mg/L - 0,801

AUC dla WBC > 11,9 G/L - 0,484

Prokalcytonina w neonatologii

- n Wydaje się, że zakażenie uogólnione jest jedynym powodem istotnego wzrostu stężenia PCT we krwi noworodków
- n Wzrost ten w odpowiedzi na zakażenie występuje również u wcześniaków, także ze skrajnie małą urodzeniową masą ciała < 1000g

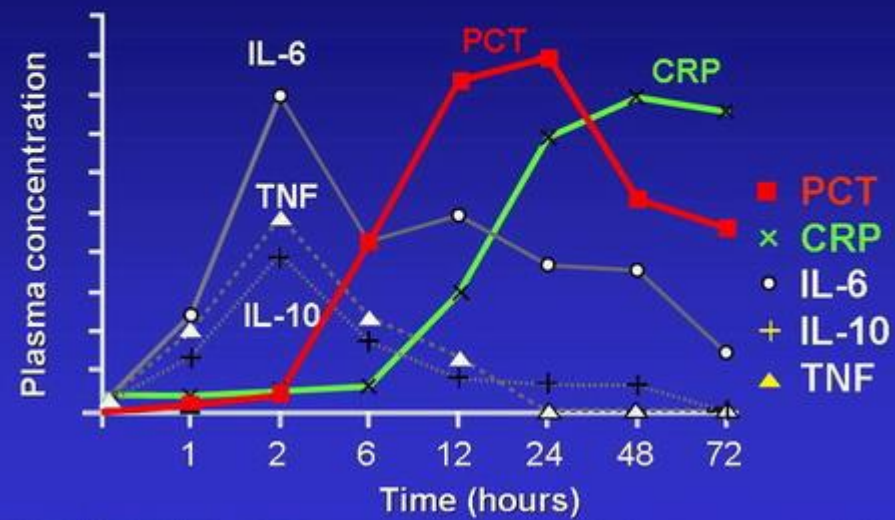
Prokalcytonina w neonatologii

- n Oznaczenie stężenia PCT w diagnostyce zakażeń jest przydatne także wtedy, gdy pacjent w chwili zachorowania otrzymywał antybiotyki (np. gdy noworodek leczony z powodu zakażenia wrodzonego ulega zakażeniu florą szpitalną)
- n Ocena stężenia PCT we krwi noworodków jest przydatna w zakażeniach zarówno florą Gram-ujemną (pałeczki szpitalne!!!), jak i Gram-dodatnią (głównie gronkowce koagulazoujemne)

Prokalcytonina w neonatologii

- n Zakażenia miejscowe, zlokalizowane, narządowe: skóry, pępka, płuc, układu moczowego, spojówek nie powodują istotnego wzrostu stężenia PCT we krwi noworodków.

Kinetics of biomarkers in sepsis



Dziękuję za uwagę