

УДК 616.94+616.94-06]:616.151.5+155.3-097.37-053.2-07

ФІЛИК О.В., БОЙКІВ Н.Д.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра анестезіології та інтенсивної терапії, кафедра клінічної лабораторної діагностики

## ГЕМОСТАЗ І ЦИТОКІНИ У ДІТЕЙ ІЗ СЕПСИСОМ

**Резюме.** У статті описано динаміку показників системи гемостазу та рівня прозапальних і проти-запальних цитокінів у дітей із сепсисом. Нами було обстежено 20 дітей віком від 11 до 18 років із сепсисом. Для дослідження системи гемостазу визначали: протромбіновий індекс, тромбіновий індекс, активований частковий тромбoplastиновий час, міжнародне нормалізаційне відношення (МНВ), розчинні фібрин-мономерні комплекси, антитромбін III, рівень D-димерів, час XIIa-залежного фібринолізу. Рівень TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2 визначали за допомогою імуноферментного аналізу. Динаміку показників гемостазу, рівня цитокінів та рівня органної дисфункції за шкалою P-MODS аналізували на 1-шу, 3-тю та 7-му добу від початку лікування. У дітей із сепсисом у першу добу від моменту встановлення діагнозу відмічалися зниження тромбінового індексу, зростання рівня розчинних фібрин-мономерних комплексів і D-димерів, зниження активності антитромбіну III та значне подовження XIIa-залежного фібринолізу з водночас статистично невірогідними відмінностями порівняно з контрольної групою щодо МНВ та значним зростанням рівня органної дисфункції за шкалою P-MODS порівняно з контрольною групою.

**Ключові слова:** сепсис, гемостаз, цитокіни, діти.

### Вступ

Сепсис — це задокументована чи підозрювана інфекція в поєднанні з системними клінічними проявами інфекції [1]. В останні роки все більше уваги приділяється вивченню взаємозв'язку запалення та згортання крові. Гемостазіологічні зміни при сепсисі є наслідком комплексної взаємодії між ендотелієм, контактною системою, клітинами (моноцитами, тромбоцитами) та медіаторами (цитокінами, тканинним фактором). Результатами такої взаємодії є внутрішньосудинне утворення фібрину, що відіграє вирішальну роль у розвитку синдрому поліорганної недостатності (СПОН). Основними причинами, що сприяють масивному утворенню тромбіну та відкладанню фібрину при сепсисі, вважають: експресію тканинного фактора різними клітинами, зокрема моноцитами-макрофагами, пригнічення фізіологічних антикоагулянтних шляхів, в основному за рахунок порушення функціонування ендотеліальних клітин, і пригнічення фібринолізу внаслідок підвищеного утворення інгібітору активатора плазміногену I типу (PAI-1) та завдяки тромбінзалежній активації тромбін-активованого інгібітору фібринолізу (TAFI). Мікрovasкулярний тромбоз та ішемія, що виникають внаслідок цього, сприяють пошкодженню тканин і прогресуванню СПОН [2].

Взаємозв'язок запалення та системи згортання крові розглядають як центральний патофізіо-

логічний фактор виникнення органної дисфункції та підтримання недостатності органів і систем [3, 4].

В Рекомендаціях Кампанії за виживання при сепсисі (2012 р.) описано алгоритм фармакопрофілактики венозної тромбоемболії у дорослих пацієнтів із тяжким сепсисом (ТС). Рекомендації ж щодо дітей пубертатного та постпубертатного віку (11–18 років) екстраполюються з відповідних для дорослих пацієнтів і стосуються призначення низькомолекулярних гепаринів і механічних профілактичних заходів при ТС [1]. У той же час відсутні офіційні рекомендації щодо тромбoproфілактики у дітей із гіперкоагуляцією при сепсисі.

**Мета роботи:** вивчити систему гемостазу у дітей із сепсисом, проаналізувати динаміку рівня про- та протизапальних цитокінів, встановити кореляцію основних показників системи гемостазу та цитокінемії з рівнем органної дисфункції пацієнта.

### Матеріали та методи дослідження

Виконання науково-дослідної роботи схвалене комісією з питань етики Львівського національно-

© Філик О.В., Бойків Н.Д., 2014

© «Медицина невідкладних станів», 2014

© Заславський О.Ю., 2014

го медичного університету імені Данила Галицького, участь пацієнтів у клінічному дослідженні погоджена інформованою письмовою згодою їх батьків.

Нами було обстежено 20 дітей віком від 11 до 18 років, які перебували на лікуванні у ВАІТ ЛОДКЛ «ОХМАТДИТ» у період з 01.12.2012 по 01.01.2014 з діагнозом «сепсис». Контрольну групу становили 15 практично здорових дітей віком від 11 до 18 років.

Дизайн дослідження: проспективне, відкрите, нерандомізоване. Критерії включення в дослідження: 2 і більше ознаки синдрому загальної відповіді організму на запалення (СЗВЗ), вогнище інфекції, вік від 11 до 18 років. Критерії виключення з дослідження: тромбофілія в анамнезі, гемофілія, вроджені вади серця, постійний прийом антиагрегантів та антикоагулянтів до розвитку сепсису, термінальний стан.

Для дослідження системи гемостазу визначали: протромбіновий індекс (ПТІ), тромбіновий індекс (ТІ), активованій частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ), міжнародне нормалізаційне відношення (МНВ), розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК), антитромбін III (АТ III), використовували мануальні методики з діагностичними наборами фірми «Технологія-Стандарт» (Росія); для дослідження часу XIIа-залежного фібринолізу — діагностичний набір фірми «Ренам» (Росія); рівень D-димерів визначали кількісним методом за допомогою діагностичного набору фірми Siemens на напівавтоматичному коагулометрі Sysmex 560. Рівень TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2 визначали за допомогою імуноферментного аналізу наборами реактивів «Вектор-Бест» (Росія). Динаміку показників гемостазу, рівня цитокінів та рівня органної дисфункції за шкалою P-MODS аналізували на 1-шу, 3-тю та 7-му добу від початку лікування.

Увесь матеріал клініко-лабораторних даних статистично опрацьовано за допомогою програм

Microsoft Excel 2007 та Statistica 8.0. Дані, що мали/не мали нормального розподілу, наведені у вигляді середнього значення та стандартного відхилення. Перевірку даних на нормальність розподілу проводили методом Шапіро — Уїлка. Для даних, що мали нормальний розподіл, визначали величину ступеня вірогідності ( $p$ ) — критерій Стьюдента. Оскільки частина даних не мала нормального розподілу, для перевірки гіпотези про статистичну однорідність двох вибірок використовували непараметричний тест Манна — Уїтні. У даній роботі значення  $p$  приймали за вірогідне в межах 0,05 і нижче.

## Результати дослідження та їх обговорення

Сепсис індукує розвиток гіперкоагуляції, гіпофібринолізу, мікротромбоутворення, ендотеліальної дисфункції, що обумовлюють розвиток СПОН. Проте не в усіх публікаціях відмічають гіпокоагуляцію у пацієнтів із ТС, а періоди порушень коагуляції при септичному шоці (СШ) рідко документують. У той же час потрібно пам'ятати, що зміни в системі гемостазу при прогресуванні від сепсису до ТС та СШ — це послідовні етапи перебігу патологічного процесу при неадекватному контролі вогнища інфекції та імунологічному дисбалансі пацієнта.

За даними проспективних досліджень, враховуючи результати аналітичних коагуляційних тестів, тромбограму (описує генерацію тромбіну), тромбоеластометричний аналіз, використовуючи регресивний логістичний аналіз, було встановлено, що подовження АЧТЧ і персистенція дефіциту генерації тромбіну на 3-й день захворювання є чіткими предикторами летальності незалежно від оцінки стану пацієнта за шкалами тяжкості стану та шкалою дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ). У клінічних дослідженнях підтверджено, що по-

Таблиця 1. Динаміка показників гемостазиограми у дітей із сепсисом ( $M \pm \sigma$ )

Показники	Сепсис (n = 20)			Контрольна група (n = 15)
	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	
ПТІ, %	83,8 $\pm$ 16,3*	89,3 $\pm$ 6,7*	91,4 $\pm$ 6,9*	97,1 $\pm$ 3,9
МНВ	1,32 $\pm$ 0,33**	1,17 $\pm$ 0,11**	1,21 $\pm$ 0,22**	1,08 $\pm$ 0,08
АЧТЧ, с	37,2 $\pm$ 6,2**	40,2 $\pm$ 3,6**	39,8 $\pm$ 2,5**	37,8 $\pm$ 3,0
ТІ, %	86,9 $\pm$ 19,8*	79,0 $\pm$ 19,0*	82,7 $\pm$ 18,5*	97,7 $\pm$ 11,2
Заг. фібриноген, г/л	3,2 $\pm$ 1,1*	3,3 $\pm$ 0,8**	3,4 $\pm$ 0,9**	2,3 $\pm$ 0,3
РФМК, мг%	11,5 $\pm$ 6,2*	9,0 $\pm$ 6,8*	7,1 $\pm$ 4,1*	4,1 $\pm$ 0,6
XIIa-залежний фібриноліз, хв	116,0 $\pm$ 12,2*	85,0 $\pm$ 22,6*	81,0 $\pm$ 22,5*	34,3 $\pm$ 14,0
АТ III, %	78,6 $\pm$ 13,9*	78,7 $\pm$ 10,9*	79,1 $\pm$ 12,3*	88,0 $\pm$ 6,4
D-димери, нг/мл	3856 $\pm$ 384*	2460 $\pm$ 618*	1420,0 $\pm$ 528,5*	310,0 $\pm$ 112,8

Примітки: \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \geq 0,05$  — вірогідність відмінностей щодо показників практично здорових дітей.

Таблиця 2. Рівень цитокінів і рівень органної дисфункції у дітей із сепсисом ( $M \pm \sigma$ )

Показники	Сепсис (n = 20)			Контрольна група (n = 15)
	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	
TNF- $\alpha$ , пг/мл	15,6 $\pm$ 2,1*	12,5 $\pm$ 3,8*	8,5 $\pm$ 3,1**	7,2 $\pm$ 1,5
IL-6, пг/мл	117,4 $\pm$ 11,7*	43,5 $\pm$ 12,9*	37,8 $\pm$ 10,2*	5,6 $\pm$ 0,9
IL-2, пг/мл	3,2 $\pm$ 0,7*	3,3 $\pm$ 0,5*	3,3 $\pm$ 0,9*	0,6 $\pm$ 0,5
P-MODS, бали	3,65 $\pm$ 1,28*	2,25 $\pm$ 1,17*	1,12 $\pm$ 0,75*	0

Примітки: \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \geq 0,05$  – вірогідність відмінностей щодо показників практично здорових дітей.

рушення коагуляції є важливою детермінантою результатів лікування. Доведено, що ДВЗ є незалежним предиктором СПОН та смерті. Серед пацієнтів із ТС летальність при наявності у них ДВЗ становила 43 % порівняно з 27 % при відсутності ДВЗ. Рівень летальності у пацієнтів із сепсисом пов'язують із тяжкістю коагулопатії [5].

При вивченні коагуляційної ланки гемостазу (табл. 1) нами були виявлені статистично вірогідні порівняно з контрольною групою відхилення від норми у фазі генерації фібрину (зниження ТІ до 86,9  $\pm$  19,8 % на першу добу від моменту встановлення діагнозу, на третю добу ТІ становив 79,0  $\pm$  19,0 %, на сьому добу – 82,7  $\pm$  18,5 %). У посткоагуляційній фазі гемостазу виявлено значне подовження часу ХІа-залежного фібринолізу: в першу добу – 116,0  $\pm$  12,2 хв, на третю добу показник знижувався на 26,7 % і становив 85,0  $\pm$  22,6 хв, до сьомої доби суттєво не змінювався і становив 81,0  $\pm$  22,5 хв ( $p \leq 0,05$ ). Водночас у першу добу лікування відмічалися підвищені рівні РФМК та D-димерів, що дає підстави трактувати це як наявність мікротромбоутворення у пацієнтів із сепсисом.

Аналізуючи показники цитокінемії (табл. 2), ми виявили, що у пацієнтів із сепсисом у першу добу рівень TNF- $\alpha$  становив 15,6  $\pm$  2,1 пг/мл ( $p \leq 0,05$ ), до третьої доби знижувався – 12,5  $\pm$  3,8 пг/мл ( $p \leq 0,05$ ), нормалізувався до сьомої доби від моменту початку лікування і становив 8,5  $\pm$  3,1 пг/мл ( $p \geq 0,05$ ).

Рівень IL-6 серед дітей із сепсисом у перший день дослідження – 117,4  $\pm$  11,7 пг/мл ( $p \leq 0,05$ ), до третьої доби знижувався – 43,5  $\pm$  12,9 пг/мл ( $p \leq 0,05$ ) і до сьомої доби лікування становив 37,8  $\pm$  10,2 пг/мл ( $p \leq 0,05$ ).

Характерною була відсутність динаміки рівня IL-2 в сироватці крові пацієнтів із сепсисом упродовж усього періоду спостереження.

Рівень поліорганної дисфункції за шкалою P-MODS до третьої доби лікування знижувався на 38,4 % ( $p \leq 0,05$ ), а до сьомої доби – на 69,4 % ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з першим днем.

За даними нашого дослідження, у першу добу лікування основними гемостазіологічними показниками, що статистично вірогідно корелювали з рівнем органної дисфункції пацієнтів за шкалою P-MODS, були: рівень МНВ:  $r = -0,35$  ( $p \leq 0,05$ ), РФМК:  $r = 0,30$  ( $p \leq 0,05$ ), час ХІа-

залежного фібринолізу:  $r = 0,84$  ( $p \leq 0,05$ ). Між показниками системи гемостазу та рівнем TNF- $\alpha$  встановлено такі кореляційні зв'язки: негативний середньої сили з ТІ:  $r = -0,30$  ( $p \leq 0,05$ ), позитивний середньої сили з АТ ІІІ:  $r = 0,35$  ( $p \leq 0,05$ ). Між рівнем IL-6 і показниками системи гемостазу встановлено наступні кореляційні зв'язки: з рівнем РФМК:  $r = 0,38$ ; з рівнем загального фібриногену:  $r = 0,59$ ; з ПТІ:  $r = 0,63$  (для всіх  $p \leq 0,05$ ). З показниками рівня IL-2 встановлено наступні кореляційні зв'язки: з АЧТЧ:  $r = 0,45$ ; з рівнем загального фібриногену:  $r = 0,33$ ; з рівнем D-димерів:  $r = -0,87$  (для всіх  $p \leq 0,05$ ).

## Висновки

1. У дітей із сепсисом у першу добу від моменту встановлення діагнозу відмічалися зниження ТІ, зростання рівнів РФМК і D-димерів, зниження активності АТ ІІІ та значне подовження часу ХІа-залежного фібринолізу, що можна трактувати як субкомпенсовану стадію гіперкоагуляції ДВЗ-синдрому.

2. Водночас з ознаками гіперкоагуляції в даній групі пацієнтів рівень МНВ залишається в межах норми, що свідчить про відсутність виснаження коагуляційного потенціалу крові у них.

3. Отримані нами клінічні дані дають можливість вважати за доцільне використання прямих антикоагулянтів у посиндромній терапії дітей із сепсисом при наявності у них ознак гіперкоагуляції, під динамічним лабораторним контролем.

## Список літератури

1. *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012* / R. Ph. Dellinger, M. M. Levy, A. Rhodes [et al.] // *Critical Care Medicine*. – 2013. – Vol. 41, № 2. – P. 580-637.
2. *Sepsis, thrombosis and organ dysfunction* / N. Semeraro, C. T. Ammollo, F. Semeraro [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2012. – Vol. 129, № 3. – P. 290-295.
3. *Levi M. Disseminated intravascular coagulation* / M. Levi, H. ten Cate // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 341(8). – P. 586-592.
4. *Winter W. Сensus и полиорганная недостаточность — патофизиология и актуальные концепции лечения* / W. Winter, E. Czeslick, A. Zablotzki // *Анестезиология и реаниматология*. – 2007. – № 5. – С. 66-72.
5. *Levi M. Systemic versus localized coagulation activation contributing to organ failure in critically ill patients* / M. Levi, T. Poll, M. Schultz // *Coagulation and Inflammation*. – 2011. – Vol. 34(1). – P. 167-179.

Отримано 01.06.14 ■

Филик А.В., Бойков Н.Д.  
Львовский национальный медицинский университет  
им. Данила Галицкого, кафедра анестезиологии  
и интенсивной терапии, кафедра клинической  
лабораторной диагностики

#### ГЕМОСТАЗ И ЦИТОКИНЫ У ДЕТЕЙ С СЕПСИСОМ

**Резюме.** В статье описана динамика показателей системы гемостаза и уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у детей с сепсисом. Нами было обследовано 20 детей в возрасте от 11 до 18 лет с сепсисом. Для исследования системы гемостаза определяли: протромбиновый индекс, тромбиновый индекс, активированное частичное тромбопластиновое время, международное нормализованное отношение (МНО), растворимые фибрин-мономерные комплексы, антитромбин III, уровень D-димеров, время XIIa-зависимого фибринолиза. Уровень TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2 определяли с использованием иммуноферментного анализа. Динамику показателей гемостаза, уровня цитокинов и уровня органной дисфункции по шкале P-MODS анализировали на 1-е, 3-и и 7-е сутки от начала лечения. У детей с сепсисом в первые сутки с момента установления диагноза отмечались снижение тромбинового индекса, рост уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов и D-димеров, снижение активности антитромбина III и значительное удлинение XIIa-зависимого фибринолиза с одновременно статистически недостоверными различиями по сравнению с контрольной группой, по МНО и высоким уровнем органной дисфункции по шкале P-MODS.

**Ключевые слова:** сепсис, гемостаз, цитокины, дети.

Filyk O.V., Boykiv N.D.  
Lviv National Medical University named after Danylo  
Galytsky, Department of Anesthesiology and Intensive Care,  
Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Lviv, Ukraine

#### HEMOSTASIS AND CYTOKINES IN CHILDREN WITH SEPSIS

**Summary.** The article describes the dynamics of the hemostatic system parameters and the level of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in children with sepsis. We examined 20 children aged 11 to 18 years with sepsis. To investigate the hemostatic system we determined: prothrombin index, thrombin index, activated partial thromboplastin time, international normalized ratio, soluble fibrin monomer complexes, antithrombin III, D-dimer level, time of XIIa-dependent fibrinolysis. The level of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2 was determined using ELISA. Dynamics of hemostatic parameters, cytokine level and level of organ dysfunction by P-MODS scale was analyzed on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> day of treatment initiation. In children with sepsis in the first day after diagnosis we detected decrease thrombin index, the increase in soluble fibrin monomer complexes and D-dimers, decreased antithrombin III activity and a significant lengthening of XIIa-dependent fibrinolysis with statistically non-significant differences compared with the control group in terms of international normalized ratio and a high level of organ dysfunction by P-MODS scale.

**Key words:** sepsis, hemostasis, cytokines, children.