

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

VAIKŲ, SERGANČIŲ ONKOHEMATOLOGINĖMIS LIGOMIS, ŽEMOS
INFEKCIJOS RIZIKOS GRUPĖS NUSTATYMAS FEBRILINĖS
NEUTROPENIJOS METU

Magistrantė DIANA TARVYDIENĖ _____
(parašas)

Darbo vadovė
dr. A.Eidukaitė _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
hab.dr.,prof. Z.A. Kučinskienė leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

Vilnius, 2011

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS.....	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Dažniausios vaikų onkohematologinės ligos.....	7
1.2. Neutropenija.....	8
1.2.1. Febrili neutropenija.....	9
1.3. Infekcinio proceso žymenys.....	10
1.3.1 C-reaktyvus baltymas (CRB).....	10
1.3.2 Citokinai.....	12
1.3.3 Prokalcitoninas.....	13
2. TIRIAMOJI MEDŽIAGA IR METODAI.....	15
2.1. Tiriamųjų grupė.....	15
2.2. Metodų aprašymas.....	16
2.2.1. Ėminiai ir mėginiai.....	16
2.2.2. Mėginių rinkimo ir laikymo metodika.....	16
2.2.3. Mėginių ruošimo tyrimams metodika.....	17
2.2.4. Leukogramos skaičiavimas.....	17
2.2.5. CRB koncentracijos matavimas.....	17
2.2.6. PCT koncentracijos nustatymas.....	17
2.2.7. IL-6 ir IL-8 koncentracijų nustatymas.....	18
2.2.8. Statistiniai metodai.....	18
3. TYRIMŲ REZULTATAI	19
3.1. Kliniškai ir mikrobiologiškai patvirtintos infekcijos.....	19
3.2. Trijų dienų nuo febrilinės neutropenijos pradžios žemos rizikos grupės statistinė analizė.....	20
3.3. Trijų dienų nuo febrilinės neutropenijos pradžios aukštos rizikos grupės statistinė analizė.....	22

3.4. Žymenų variavimai tiriamosiose grupėse.....	26
3.5. Žemos rizikos ir aukštos rizikos grupių rodiklių palyginimas.....	28
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	31
5. IŠVADOS.....	34
6. SUMMARY.....	35
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	37

SANTRUMPOS

AUC – (ang. Area under the curve) – plotas po kreive

CRB - C reaktyvus baltymas

DNR – dezoksiribonukleorūgštis

EBV – Epštein –Baro virusas

ENG – eritrocitų nusėdimo greitis

FN – febrilinė neutropenija

IL-6 – interleukinas -6

IL-8 – interleukinas-8

KČ – kaulų čiulpai

LPS - lipopolisacharidus sujungiantis baltymas

MTL - mažo tankio lipoproteinas

NPV– neigiama prognostinė vertė

PCT - prokalcitoninas

PSO – pasaulio sveikatos organizacija

RNR – ribonukleorūgštis

TPV – teigiama prognostinė vertė

TNF- α – (angl. Tumor necrosis factor- α) – navikų nekrozės faktorius- α

TGF- β – (angl. Transforming growth factor- β) - transformuojantis augimo faktorius- β

ŪLL- ūminė limfoblastinė leukemija

ŪML - ūminė mieloidinė leukemija

IVADAS

Pasaulyje kasmet diagnozuojama daugiau kaip 750000 naujų onkohematologinių atvejų. Šiuo metu tokiomis ligomis pasaulyje serga apie 1,7 mln. gyventojų. Lietuvos statistikos duomenimis piktybiniais kraujo navikais serga daugiau kaip 4 000 gyventojų. Mirtingumas, sergant šiomis ligomis yra didesnis už mirtingumą, sergant kitais navikais. Kasmet nuo kraujo ligų pasaulyje miršta beveik pusė milijono gyventojų. Lietuvoje nuo šių ligų kasmet miršta apie 400 žmonių. Navikais ir kraujo bei kraujodaros organų ligomis Lietuvoje serga 0,8 – 1,2 % vaikų (Lietuvos sveikatos informacijos centras, 2007 m. duomenys), kasmet vėžiu suserga apie 100 vaikų, iš kurių trečdalis – kraujo vėžiu.

Kraujo vėžys ar/ir intensyvi chemoterapija taikoma sergantiems vaikams sumažina organizmo atsparumą infekcijai. Viena iš pagrindinių infekcinio proceso priežasčių yra gydymo eigoje išsivystanti neutropenija, kurią dažniausiai lydi karščiavimas. Karščiavimą pacientams gali sukelti tiek taikoma chemoterapija, tiek beprasidedantis infekcinės kilmės uždegimas, todėl labai svarbu kuo anksčiau nustatyti karščiavimo priežastį, tuo būdu išvengiant empirinio plataus spektro antibiotikų skyrimo sergantiems vaikams ir iš to išplaukiančių pasekmių – ilgesnės hospitalizacijos ir su tuo susijusios gyvenimo kokybės blogėjimo, rezistentiškos mikrofloros išsivystymo, pavojaus užsikrėsti antibiotikams astparia hospitaline infekcija. Todėl labai svarbu klinikinėje praktikoje turėti jautrius ir specifinius imunologinius žymenis, kurių pagalba vaikus su febriline neutropenija būtų galima priskirti žemai infekcinio susirgimo rizikos grupei, tuo būdu išvengiant nereikalingo antibiotikų vartojimo ir ilgalaikės hospitalizacijos.

Pasirenkant vaikų rizikos vertinimo kriterijus, turi būti atsižvelgiama į tam tikras problemas. Viena iš jų yra pagrindinė liga. Kai kurie autoriai mano, kad pacientai, kuriems neutropenija yra dėl kraujo piktybinės ligos, niekada negali būti priskiriami mažos rizikos pacientų grupei. Kitas svarbus aspektas yra tai, kad šiems pacientams rizika turi būti pakartotinai įvertinta po 12- 24 val., nes febrilinės neutropenijos eigoje ji gali keistis į gerą ar į blogą pusę [38].

Šiuo metu dažniausiai ir plačiausiai klinikinėje praktikoje infekcinio proceso netiesioginei diagnostikai ir vertinimui yra naudojamas C reaktyvus baltymas (CRB). CRB – yra ūmios fazės baltymas, kurį sintetina kepenys citokinų (IL-6) poveikyje. Pagrindinis CRB kaip infekcinio proceso žymens trūkumas yra nepakankamas jautrumas ir specifiskumas infekcinio proceso pradžioje. Kiti žymenys – prokalcitoninas, citokinai (IL-6, IL-8), lipopolisacharidus sujungiantis baltymas – (LPS) klinikinėje praktikoje naudojami rečiau ir jų

naudojimas varijuoja priklausomai nuo kiekvienos šalies medicinos lygio ir tradicijų. Ir nors daugelis iš šių paminėtų žymenų yra specifiškesni ir jautresni (lyginant su CRB) infekcinio proceso vertinime, ypač pradiniame etape, tačiau platesniam jų naudojimui trukdo standartizacijos stoka, nepakankamas atliktų klinikinių tyrimų kiekis.

Darbo tikslas: įvertinti infekcinio proceso ir imuninio atsako sąlygojamus žymenų (citokinų, ūmios fazės baltymų) pokyčius infekcinio proceso pradžioje, siekiant nustatyti vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis žemos infekcijos rizikos grupę.

Uždaviniai:

1. Nustatyti limfocitų, monocitų skaičių kraujyje febrilinės neutropenijos metu ir jų reikšmę nustatant infekcijos rizikos grupę.
2. Įvertinti ūmios fazės baltymų: CRB ir PCT bei citokinų IL-6 ir IL-8 koncentraciją kraujyje febrilinės neutropenijos metu ir jų reikšmę nustatant infekcijos rizikos grupę.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Dažniausios vaikų onkohematologinės ligos

Onkohematologinės ligos - tai vėžio rūšys, kai pažeidžiamos kraujo, kaulų čiulpų ir limfmazgių ląstelės. Leukemija - tai navikinė kraujo sistemos liga, pasireiškianti subrendusių baltųjų kraujo kūnelių (leukocitų) formų atsiradimu kraujyje, leukocitų skaičiaus pakitimu, sutrikusia jų funkcija, normalių kraujodaros ląstelių slopinimu ir pakitusiu ląstelių susikaupimu įvairiuose organuose (blužnyje, kepenyse, limfmazgiuose, odoje, smegenyse) [50].

Leukemijos skirstomos į ūmines ir lėtines.

Ūminė leukemija – tai progresuojanti piktybinė hemopoezinio audinio liga. Ji kyla iš vienos ląstelės pirmtakės, kuri pradeda nereguliuojamai dalintis ir nustoja diferencijuotis [20].

Ūminė leukemija diagnozuojama nustatant dominuojančias nesubrendusias kaulų čiulpų ląsteles – blastus. Šių mažai diferencijuotų ląstelių DNR sintezės laikas daug ilgesnis, nors jos kilusios iš aktyviai proliferatyvių pirmtakų, bet dalijasi lėčiau nei normalios ląstelės. Blastai gali būti aptinkami kaulų čiulpuose, blužnyje ir limfiniuose mazguose. Normalūs kaulų čiulpų elementai dažniausiai yra išstumiami, mažėja jų skaičius. Galiausiai jie yra pakeičiami piktybinėmis ląstelėmis [54].

Diagnuojuojant ūmines leukemijas, blastų skaičius kaulų čiulpuose ir periferiniame kraujyje turi sudaryti ne mažiau kaip 30% visų kraujo elementų. Galimi atvejai, kai blastų periferiniame kraujyje neaptinkama [20].

Leukemijos klasifikuojamos pagal prancūzų, amerikiečių, britų (angl. French-American-British) arba pasaulio sveikatos organizacijos PSO klasifikaciją. Pagal blastų kilmę ūminės leukemijos skirstomos į ūmines limfoblastines (ŪLL) ir ūmines mieloidines (ŪML).

Ūminė leukemija sudaro apie 80-90% visų vaikams pasitaikančių leukemijų. Vaikai dažniausiai serga ūminėmis limfoblastinėmis leukemijomis. Ūmine mieloblastine leukemija dažniau serga suaugę žmonės [28]. Pagrindinis vaidmuo leukemijos genezėje tenka predisponuojantiems veiksniams (fiziniais, cheminiais, genetiniams ir kt), lemiantiems ląstelės genomo pokyčius [50].

Leukemijai prasidėti turi reikšmės ir genetiniai veiksniai: žinoma, kad leukemija per pirmuosius 5 metus suserga 14% identiškų dvynių. Aprašoma didesnis sergamumas šia liga šeimose, kuriose yra kraujomaišos. Leukemija dažnesnė vaikams, turintiems įgimtų chromosomų defektų arba imunodeficitinę būklę. Įrodyta, kad Dauno sindromu sergantiems vaikams leukemija

pasitaiko 20 kartų dažniau. Leukemija dažnesnė ir Fan-konio anemija, Kleinfelterio sindromu, Švachmano (*Schivachman*) sindromu, Polando sindromu, įgimta telengiektazine ataksija, neurofibromatoze ir hip imunoglobulinemija sergantiems vaikams. Manoma, kad leukemijos fenotipas yra genetiškai determinuotas [50,51].

Įrodyta, kad leukemiją gali sukelti ir RNR, ir DNR virusai. RNR priklausantis žmogaus T limfomos 1 tipo virusas sukelia žmonių T limfomą, endemiškai paplitusią dvejose Japonijos ir Karibų salose. DNR virusams priklausantis Epšteino-Bar virusas sukelia infekcinę mononukleozę, Ber-kito limfomą, limfoepiteliomą ir sužadina B limfoidinių ląstelių proliferaciją *in vitro*. Virusinę leukemijos prigimtį patvirtina ir padidėjęs fermento atvirkštinės transkriptazės aktyvumas limfoblastuose [51].

1.2 Neutropenija

Neutropenija - tai cirkuliuojančių neutrofilų kiekio sumažėjimas kraujyje. Ji pasireiškia dėl sutrikusios neutrofilų gamybos kaulų čiulpuose. Visoms neutropenijoms būdinga panaši klinika: karščiavimas, infekcijos (gingivitas, stomatitas, proktitas, odos infekcija, sepsis), blogai gyjančios žaizdos. Neutropenijos terminu apibrėžiamas absoliutus neutrofilų skaičius $< 500/\mu\text{l}$ ar $< 1000/\mu\text{l}$, kai numatomas mažėjimas sekančių dviejų dienų bėgyje. Neutropenijos sunkumas vertinant infekcijos riziką, yra susijęs su absoliučiu neutrofilų skaičiumi, laikoma, kad didesnę infekcijos riziką turi tie, kurių bendras neutrofilų skaičius yra $< 100/\mu\text{l}$. [38].

Neutropenijos formos: lengva - $2,0-1,0 \times 10^9/1$ neutrofilų, vidutinė - $1,0-0,5 \times 10^9/1$ neutrofilų, sunki - $0,5-0,1 \times 10^9/1$ neutrofilų, labai sunki, arba agranulocitozė, - $<0,1 \times 10^9/1$ neutrofilų [51]. Pastovi neutropenija parodo kaulų čiulpų ištuštėjimą [50].

Neutropenija yra dažniausia chemoterapijos sukelta komplikacija. Neutropenijos sunkumo laipsnis ir trukmė, sumažėjusi granulocitų funkcija ir natūralių organizmo barjerų – odos, gleivinių – pažeidimas didina sunkių infekcijų riziką ir sąlygoja didesnę onkologinių ligonių mirtingumą [11].

1.2.1. Febrilinė neutropenija

Febrilinė neutropenija yra paciento su neutropenija - nenormaliai mažų neutrofilinių granulocitų skaičiumi, karščiavimas, dažnai su kitais infekcijos požymiais [24]. Tai citotoksinės terapijos sukeltas onkologiniams ir onkohematologiniams ligoniams heterogeninis agranulocitozės sindromas, vertinamas kaip urgentinė medicininė būklė, kelianti tiesioginę grėsmę gyvybei, reikalaujanti skubios kvalifikuotos pagalbos [22]. Febrilios neutropenijos diagnostikos kriterijai:

- mielosupresinė ar mieloabliacinė terapija (polichemoterapija, bendrinė kūno radiacija)
- absoliutus neutrofilų (lazdelinių + segmentuotų) skaičius kraujyje $<0,5 \times 10^9/l$
- vienkartinis kūno temperatūros padidėjimas $>38,5^{\circ}\text{C}$ arba $>38^{\circ}\text{C}$ ne mažiau kaip 8h bėgyje [22].

Febrilinė neutropenija gali atsirasti esant bet kokiai neutropenijos formai, bet dažniausiai ji laikoma chemoterapijos, jei ši yra mielosupresinė (slopinananti kraujo ląstelių gamybą kaulų čiulpuose), komplikacija [19]. Febrilinė neutropenija dažnai prisideda hemodinaminiais sutrikimais, kuriuos sukelia infekcija, ir tokie ligoniai dėl infekcijos išsivystymo ir refrakterinio septinio šoko rizikos yra laikomi kritiniais [19].

Febrilinė neutropenija ir infekcijos: infekcijos sudaro apie 70 proc. visų letalių išeičių sergant ūminėmis leukemijomis [11]. Karščiavimas – dažniausias ir neretai vienintelis infekcijos simptomas, todėl visiems onkologiniams ligoniams, kuriems pasireiškė chemoterapijos sukelta neutropenija ir kuriems temperatūra yra didesnė nei $38,5^{\circ}\text{C}$ skiriamas empirinis gydymas intraveniniais plataus poveikio antibiotikais [3]. Antibiotikų terapija febrilinei neutropenijai gydyti per pastaruosius kelis dešimtmečius labai pasikeitė ir mirtingumas nuo infekcijos febrilinės neutropenijos metu sumažėjo nuo 40 proc. iki 2,8 proc. [32].

Infekcijų dažnį įtakojantys veiksniai: neutropenijos sunkumas ir ypač jos trukmė ($<0,1 \times 10^9/l$, 7-9 (10) dienų), lydinčios imuniteto defektai dėl pagrindinės ligos biologinių ypatumų (hipogamaglobulinemija, ląstelinio imuniteto sutrikimai), imunosupresija dėl specifinio gydymo (citostatikai, chemoterapija prieš KČ transplantaciją, splenektomija), kitos medicininės procedūros (šlapimo pūslės kateterizacija, endoskopinės procedūros), aplinkos veiksniai (įprastinė palata, dalinai ar visiškai aseptiška aplinka, sterilus maistas) nazokomialinė infekcija (hospitalinė infekcija), antibiotikų vartojimas, antibiotikai kuriems vystosi rezistentiškumas, vartojimo mastai infekcijų gydymui ir ypač prevencijai: tetraciklinai, eritromicinai, gentamicinai, imipenemas [14].

Vaikams su febriline neutropenija infekcija nustatoma nuo 10 iki 40 proc. [7]. Rackoff ir kt. dar 1996 metais ištyrė 115 FN epizodų 72 vaikams, sergantiems vėžiu, ir 21% epizodų buvo rasta bakteriemija. Absoliutus monocitų skaičius ($<0,1 \times 10^9/l$) ir temperatūra $\geq 39^{\circ}\text{C}$ guldant į gydymo

įstaigą buvo vieninteliai klinikiniai požymiai nepriklausomai koreliuojantys su bakteriemija; bakteriemijos nebuvo nustatyta vaikams, kurių monocitų skaičius buvo $\geq 0.1 \times 10^9/l$ (žemos rizikos grupė) [37]. Bakteriemija yra dažniausia infekcijos forma [29]. Nuo trečdaliao iki pusės visų bakteriemijos epizodų sukelia gramneigiamos bakterijos (*E.coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Enterobacter sp.*). Iš gramteigiamų bakterijų dažniausiai išskiriami koagulazės negaminantys stafilokokai, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* ir kt. [36].

Vaikams, lyginant su suaugusiais, rečiau nustatoma lokalizuota infekcija (32% vaikams ir 41% suaugusiesiems), ir rečiau būna infekcija su dokumentuotu karščiavimu (19% ir 28% atitinkamai). Apskritai bakteriemijos dažnis yra panašus (22% ir 24% atitinkamai), bet karščiavimas dėl neaiškios priežasties dažniau būna vaikams (49% ir 38% atitinkamai), kas gali atspindėti skirtingą infekcijos eigą ir klinikinio ištyrimo nuo amžiaus priklausomus ypatumus [19].

Dažniausi infekcijos sukėlėjai febrilinės neutropenijos metu yra bakterijos. Dominuoja enterobakterijos, patenkančios į kraują klasikiniu translokacijos būdu, gram-teigiamos bakterijos, kurių dažnio padidėjimas yra siejamas su dažnesniu invazyvių priemonių naudojimu, ypač ilgalaikiu kateterių naudojimu ir plataus spektro antibiotikais [24]. Gram-neigiamų mikroorganizmų dominavimas, parodė, kad febrilinės neutropenijos metu gram-neigiami ir gram-teigiami mikroorganizmai gali vienodai būti infekcijos sukėlėjais, netgi labiau linkstama į tai, kad dominuoja gram-teigiamos bakterijos [13]. Kitos blogos išeitys gali būti gyvybei pavojingos medicininės komplikacijos (pvz.: hipotenzija, psichikos sutrikimai, kvėpavimo nepakankamumas ir inkstų funkcijos nepakankamumas) ir intensyvaus gydymo būtinybė. Sunkiausia FN pasekmė yra mirtis nuo sepsio. Ankstyva mirtis dažniausia sukelia išvešėjusios bakterinės (Gram-neigiamos) infekcijos sukeltos sepsio [4].

1.3. Infekcinio proceso žymenys

1.3.1. C-reaktyvus baltymas (CRB)

Šiuo metu dažniausiai ir plačiausiai klinikinėje praktikoje infekcinio proceso netiesioginei diagnostikai ir vertinimui naudojamas C reaktyvus baltymas (CRB). CRB yra ūmios fazės baltymas, kurį sintetina kepenys, veikiamos citokinų. Pagrindinis CRB, kaip infekcinio proceso žymens, trūkumas yra nepakankamas jautrumas ir specifiškumas infekcinio proceso pradžioje [55].

C reaktyvusis baltymas sintetinamas kepenyse. Sveikų asmenų kraujo plazmoje jo koncentracija yra labai maža, o ūminio uždegimo metu gali padidėti 20-25 kartus, todėl priklauso ūminės fazės baltymų grupei (jo koncentracijos padidėjimas kraujyje yra kaip atsakas į uždegiminių citokinių, pvz., interleukino-6, sekreciją). Iki šiol nėra aprašyta CRB genetinė stoka, ir tai rodo, kad CRB būtinas gyvybei. Šio baltymo gyvavimo kraujyje pusperiodis - apie 19 valandų [33].

C-reaktyvus baltymas (CRB) – tai ciklinis pentamerinis oligoproteinas, sudarytas iš penkių identiškų neglikolizuotų polipeptidinių subvienetų (monomerų), sujungtų nekovalentinėmis jungtimis. Kiekvieną monomerą sudaro 187 aminorūgštys, kurios išsidėstydamos suformuoja stabilią disko formos pentamerinę struktūrą, užkoduotą pirmoje chromosomoje [48]. CRB sintetinamas kepenyse. Jo sintezę skatina antigenai, imuniniai kompleksai, bakterijos ir kt. Gerai koreliuoja su ENG, tačiau CRB pokyčiai greitesni. Klinikiniam vertinimui CRB yra vienas tinkamiausių žymenų. Rekomenduojama reikšmė kraujo serume: ≤ 5 mg/l [25].

CRB geba sudaryti precipitatus su pneumokokų C grupės polisacharidu dalyvaujant kalcio jonams. Jiems esant, CRB jungiasi su fosfocholino, fosfotidilcholino (jie įeina į membranų sudėtį) molekulėmis bei nukleino rūgštimis ir kartu su serumo amiloidu P (kitas ūminės fazės baltymas) aktyvuoja komplemento sistemą, opsonizuoja bakterijas, plazmines membranas, skatindami jų pašalinimą su fagocitinėmis ląstelėmis. Pastarųjų mokslinių darbų duomenimis, CRB dėl savo gebėjimo jungtis su MTL (mažo tankio lipoproteinais) dalyvauja aterosklerozės patogenezėje. CRB sintezę skatina uždegiminis procesas – ūminės infekcijos (bakterinė, virusinė arba parazitinė), traumos (mechaninės, fizinės arba cheminės), operacijos, audinių nekrozė bei kiti pažeidimai (išeminė širdies liga, metabolinė koma, šokas). Laikotarpis, per kurį padidėja CRB koncentracija serume, priklauso nuo audinių pažeidimo laipsnio ir apimties, bet nepriklauso nuo lyties, amžiaus ir medikamentų, kurie neveikia uždegimo [33]. CRB pradeda didėti praėjus 6-8 val. nuo audinių pažeidimo, maksimaliai po 48 val. Padidėjęs CRB išlieka kelias dienas ar net daugiau savaitės, pasibaigus uždegiminių procesui arba pagerėjus klinikinei situacijai [17]. CRB pasižymi dideliu jautrumu, jo kiekis gali padidėti esant ir nedidelei infekcijai (pvz., peršalimui). C-reaktyvus baltymas ypač informatyvus diferencijuojant bakterines ir virusines ligas. Labai didelis CRB kiekis (net iki 100 mg/l ir daugiau) būdingas bakteriniam procesui, o esant virusiniam susirgimui, CRB padidėja (iki 35 mg/l). CRB sintezė kepenyse yra specifiskai reguliuojamas procesas. Pažeidus membranos dvisluoksnią struktūrą, atidengiama fosfocholino molekulė, prie kurios jungiasi CRB. Ši sąveika aktyvuoja tolesnę CRB sintezę, kepenų ląstelėms informaciją perduoda interleukinai (IL).

C-reaktyvusis baltymas yra svarbus naujagimių bakterinei infekcijai diagnozuoti. Po pirmųjų kelių dienų CRB padidėjimas yra gana specifiskas ir būdingas infekcijoms. Kai kurie autoriai teigia, kad CRB taip pat yra svarbus veiksnys nustatant gydymo antibiotikais trukmę.

Tyrimai rodo, jog CRB ypač svarbus pooperaciniu laikotarpiu, nes rodo slapto uždegimo pradžia. Jeigu po operacijos, praėjus 4-5 dienoms, CRB koncentracija išlieka padidėjusi, galima įtarti infekciją ar pooperacines komplikacijas. Ligoniams, patyrusiems traumą, CRB kiekis priklauso nuo sužeidimų skaičiaus.

CRB nustatymas labai naudingas kraujo ligomis sergantiems ligoniams slaptų bakterinių infekcijų išaiškinimui. CRB leidžia diferencijuoti viršutinių ir apatinių urogenitalinės sistemos takų uždegimą (ypač aktualu vaikams bei netekusiems sąmonės ligoniams). Esminis reikalavimas CRB, kaip diagnostiniam rodmeniui, stebint ligos eigą – nuolatinis koncentracijos stebėjimas. Sunkių ligų atvejais, ypač ligos pradžioje, CRB reikia stebėti kasdien, kartais – dar dažniau.

1.3.2. Citokinai

Citokinai – baltyminės kilmės tarpląstelinės sąveikos mediatoriai, dalyvaujantys hemopoezėje, imuninėse ir uždegiminėse reakcijose, daugelyje kitu biologinių procesų. Citokinai - tai nedidelės molekulinės masės baltymai (15-25 kDa), kurių pagrindinis šaltinis yra monocitai/makrofagai ir limfocitai [2]. Citokinių veikimas yra pleotropinis ir dubliuojamasis. Citokinių gamyba yra trumpas, savireguluojamasis procesas [26]. Ląstelėje citokinai gali sukelti arba slopinti kitų citokinių sintezę, būti vienas kito atžvilgiu sinergistai arba antagonistai.

Nuo ląstelių taikinių ir citokinių sąveikos priklauso daugelis fiziologinių procesų (temperatūros reguliavimas, kaulų rezorbcija, gijimo procesas, ląstelių augimas, hemopoezė), esant patologijai - atsakas į infekciją, alergiją, ūminio ar lėtinio uždegimo formavimąsi.

Citokinių poveikis yra svarbus hemopoezei. Taip pat citokinai veikia įgimto imuniteto reakcijas — tai antivirusinių savybių turintys (interferonai IFN-a ir INF-p) ir uždegimo reakcijose vietiška ir sistemiškai dalyvaujantys citokinai (TNF-a, IL-1, IL-6, chemokinai IL-12, IL-15, IFN-y), uždegimą slopinantys (IL-4, IL-10, IL-13 ir TGF-p) ir gijimą skatinantys citokinai, priklausantys augimo faktorių grupei. Išskiriami įgyto imuniteto reakcijas veikiantys citokinai (IFN-y, IL-2, IL-4, IL-5), skatinantys limfocitų proliferaciją ir diferenciaciją į efektorines ir atminties ląsteles, įvairių klasių imunoglobulinų sintezę, T helperių efektorių funkciją [26].

Naturalaus imuniteto reguliatoriai-prouždegiminiai citokinai, tarp jų IL-6, IL-8, dalyvauja nespecifinėse imuninėse reakcijose, esant infekcijai, pagrindiniai jų taikiniai yra fagocitai, makrofagai, granulocitai [42].

IL-6-kaip ir kiti citokinai, dalyvauja perduodant imuninio atsako signalą iš vieno ląstelės į kitą. Jo padidėjimas visada būna susijęs su uždegimu, sepsiu. IL-6 nustatymas gali būti naudingas

įvertinant smegenų mirtį ir parenkant organų donorus transplantacijai. IL-6 koncentracijos padidėjimas - vienas aktyviausių miokardo pažeidimo požymių esant miokardo infarktui [58].

IL-6 tai - polipotentinis citokinas, pasižymintis prouždegiminiu aktyvumu. Į uždegiminį atsaką įsitraukia kiek vėliau nei kiti prouždegiminiai citokinai (IL-1, TNF-a), slopindamas jų išsiskyrimą. Dalyvauja imuninio atsako reguliacijoje: indukuoja IL-2 produkciją, B limfocitų proliferaciją ir diferenciaciją, imunoglobulinų sekreciją. Interleukinas - 6 (IL-6) gaminamas T ląstelių, makrofagų, endotelio ląstelių [1]. Citokinas IL-6 geba sintetinti ir navikinės ląstelės, o šis indukuoja mielominių ląstelių proliferaciją, skatina gimdos kaklelio, tiesiosios žarnos, inkstų vėžio augimą [57, 27, 18]. Nustatytas ryšys tarp cirkuliuojančio citokino IL-6 ir didesnės Hodžkino limfomos išsivystymo rizikos [10].

IL-8 – chemokinas, aktyvuojantis neutrofilus. Tai uždegiminis citokinas, jo padidėjusi koncentracija asocijuojasi su lėtiniais ir ūmiais uždegimais. IL-8 produkuoja monocitai, makrofagai, endotelinės ląstelės [8,59]. IL-8 produkcija yra skatinama bakterijų, virusų, kitų prouždegiminių citokinių [23,43].

1.3.3. Prokalcitoninas

Prokalcitoninas – sisteminės uždegiminės reakcijos į infekciją žymuo. Tai yra naujas bakterijų, grybelių ir pirmuonių sukeltų infekcinių ligų žymuo. Prokalcitoninas - kalcitonino, produkuojamo skydliaukės C ląstelėse, pirmtakas [39]. Tai yra iš 116 aminorūgščių sudarytas glikoproteinas, jo molekulinė masė - apytiksliai 12,3 kD [44]. PCT išskiria daugelio organų skirtingi ląstelių tipai atsakydami į prouždegiminį dirginimą, ypač bakterinį [12].

PCT atrastas 1992 metais. Tai ankstyvas greitas ir perspektyvus diagnostinis parametras, turintis skiriamųjų požymių nuo kitų šiuo metu naudojamų uždegiminio atsako indikatorių [5,39].

Sveikų žmonių kraujyje PCT koncentracija yra labai maža (<0,1 ng/ml). Priklausomai nuo klinikinio fono, PCT koncentracija, esanti daugiau nei 0,1 ng/mL, signalizuoja apie kliniškai relevantinę bakterinę infekciją, kuriai reikalingas gydymas antibiotikais [9]. Bakterinės infekcijos, sepsio, dauginio organų nepakankamumo atvejais prokalcitonino koncentracija didėja. Dėl greito PCT koncentracijos didėjimo infekcijos metu, galima manyti, jog šis baltymas dalyvauja imuninio atsako patogenezėje. Tačiau kaip infekcijos metu atsipalaiduoja PCT, kol kas neištirta [22]. Manoma, jog bakterinio uždegimo stimuliuota PCT sekrecija vyksta plaučių bei žarnyno neuroendokrininėse ląstelėse [17,39]. PCT koncentracijos padidėjimas nustatomas praėjus 2-3 val.

po endotoksinio streso, kurį stimuliuoja bakterinis uždegimas, bakteremija, sepsis, septinis šokas [5,6]. Klinikinių studijų duomenimis, bakterinis uždegimas ir sepsis, bet ne virusinė infekcija ar autoimuninis pažeidimas indukuoja didelę PCT koncentraciją serume, netgi kai pašalinta skyd liaukė. Tai rodo, kad, atsiradus infekcijai, PCT gaminasi ne skyd liaukėje [44]. Prokalcitoninas gali būti panaudotas tiek skubiai diagnostikai, tiek gydymo efektyvumui įvertinti [40]. Prokalcitonino koncentracija paprastai padidėja sepsio metu, tačiau prokalcitoninas kiek nuvilia bandant atskirti infekciją nuo uždegimo [16].

Tikslinant karščiavimo priežastis, ypač svarbu PCT koncentraciją nustatyti ligoniams, su nusilpusiu imunitetu. Tai ligoniai po spindulinės ar chemoterapijos, kai reikia nutarti, ar karščiavimą sukėlė naviko irimas ar atsiradusi bakterinė, grybinė infekcija [44].

PCT koncentracijos nustatymas gali padėti stebėti ligonį po organų transplantacijos, kai reikia atskirti ar tai transplantato atmetimo reakcija (PCT - nekinta), ar pasireiškė bakterinė infekcija ligoniui po organų transplantacijos (PCT - padidės) [44].

2. TIRIAMOJI MEDŽIAGA IR METODAI

2.1. Tiriamųjų grupė

Tyrimai buvo atliekami Vilniaus Universiteto Vaikų ligoninės Klinikinėje-biocheminėje laboratorijoje. Tiriamoji medžiaga buvo renkama Vilniaus Universiteto Vaikų ligoninės Onkohematologiniame skyriuje. Iš viso į tyrimą buvo įtraukti 45 onkologiniai pacientai su febriline neutropenija. Buvo nustatyti šešiasdešimt šeši febrilinės neutropenijos epizodai. Vaikų amžius svyravo nuo 1 iki 18 metų. Tyrimui atlikti gautas Bioetikos komiteto leidimas.

Vaikai su febriline neutropenija buvo klasifikuojami į dvi grupes pagal mikrobiologinius ir klinikinius duomenis:

1. Žemos rizikos grupė – pacientai su neigiama kraujo kultūra, be klinikinių sepsio požymių ir be klinikinio, ar mikrobiologinio vietinės infekcijos patvirtinimo.
2. Aukštos rizikos grupė – pacientai teigiama kraujo kultūra (nustatyta Gram-teigiama arba Gramn-neigiama infekcija) ir kliniškai dokumentuotu sepsiu.

Smulkesnė informacija apie šias grupes apibendrinta lentelėje (1 lentelė).

1 lentelė. Tiriamųjų grupių charakteristika

Charakteristika	Žemos rizikos grupė	Aukštos rizikos grupė
Febrilinės neutropenijos epizodų skaičius	37	29
Trukmės epizodų mediana, dienos	2 (1-11)	1 (1-18)
Lytis (mergaitės/berniukai)	14/18	6/10
Amžiaus mediana, metai	2 (2-18)	17 (2-17)
Diagnozė: Ūminė limfoblastinė leukemija (ŪLL)	24	10
Ūminė mieloidinė leukemija (ŪML)	3	4
Sarkomos (Osteo sarkoma , Evingo sarkoma)	3	1

2.3. Metodų aprašymas

Nuo pirmos karščiavimo paros 3 dienas buvo imamas kraujo ėminys ir buvo skaičiuojama leukograma, nustatomos CRB, PCT, citokinų IL-6 ir IL-8 koncentracijos. Kraujo pasėliai buvo imami pirmą karščiavimo parą prieš paskiriant antibakterinį gydymą.

2.2.1. Ėminiai ir mėginiai

Veninis kraujas ir serumas.

2.2.2. Mėginių rinkimo ir laikymo metodika

Veninis kraujas buvo imamas į Vacutainer mėgintuvėlius su K3 EDTA (leukogramai), į mėgintuvėlius su skiriamuoju geliu(citokinams, CRB ir PCT) ir mikrobiologiniam tyrimui į 2

atskirus Bactec buteliukus. Juos naudojome pagal gamintojo instrukcijas ir laboratorijos kokybės vadovą.

2.2.3. Mėginių ruošimo tyrimams metodika

Kiekvienas mėginys tikrintas vizualiai: ar nėra krešulio, hemolizės, ar tinkamas kiekis. Veninis kraujas buvo centrifuguojamas prie 2000 g 10 minučių, kad atskirti serumą.

2.2.4. Leukogramos skaičiavimas

Kraujo mėginiai buvo tirti pagal gamintojo instrukcijas hematologiniu analizatoriumi Sysmex XT-4000 ir gamintojo reagentais. Nustatomas kraujo leukocitų skaičius ir kraujo ląstelių nuošimtis bei absoliutus skaičius.

Sysmex XT-4000 yra automatinis hematologinis analizatorius, skirtas naudoti klinikinėse laboratorijose *in vitro* diagnostikai. Leukocitai tiriami optiniu detektoriaus bloku fluorescencinės tėkmės citometrijos metodu, naudojant puslaidininkį lazerį.

2.2.5. CRB koncentracijos matavimas

CRB koncentracija buvo matuojama automatinio biocheminio analizatoriumi „Cobas Integra 400 plus“ (Roche Diagnostics, Šveicarija). Principas - turbidimetrinis metodas.

2.2.6. PCT koncentracijos nustatymas

PCT koncentracija matuojama automatinio biocheminio analizatoriumi „Cobas e 411“.

Testo atlikimo principas: sluoksninės konstrukcijos principas.

- 1a inkubacija: reaguoja mėginys, biotinilinti monokloniniai PCT specifiniai antikūniai - žymėti rutenio kompleksu, susidaro sluoksninės konstrukcijos kompleksas.
- 2a inkubacija: pridėjus streptavidinų padengtų mikrodalelių, kompleksas prijungiamas prie kietosios fazės, sąveikaujant biotinui ir streptavidinui.
- Reakcijos mišinys išsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje mikrodalelės magnetiniu būdu sugaunamos ant elektrodo paviršiaus. Neprisijungusios medžiagos pašalinamos su ProCell.

- Prie elektrodo prijungus elektros srovę, skatinama chemiliuminescencinė emisija, kurios dydis išmatuojamas foto daugintuvo pagalba.
- Rezultatai nustatomi iš kalibracinės kreivės, kuri tiksliai užrašoma instrumentiniu būdu 2-taškų kalibracijos metu, ir iš pagrindinės kreivės, pateikiamos su reagentų brūkšniu kodu.

2.2.7 IL-6 ir IL-8 koncentracijų nustatymas

Veniniai kraujo ėminiai interleukinų nustatymui buvo surinkti į 5 ml Vacutest polipropileno mėgintuvėlius su skiriamuoju geliu. Mėgintuvėliai buvo centrifuguojami 2000 g 10 min., kad atskirti serumą, atskirtas serumas iki ištyrimo buvo laikomas Eppendorf mėgintuvėliuose -70°C temperatūroje. IL-6 ir IL-8 koncentracijos pacientų plazmoje buvo matuojamos chemiliuminescencinės imunoanalizės būdu naudojant automatizuotą analizatorių Immulite-1000 (Siemens).

2.2.8. Statistiniai metodai

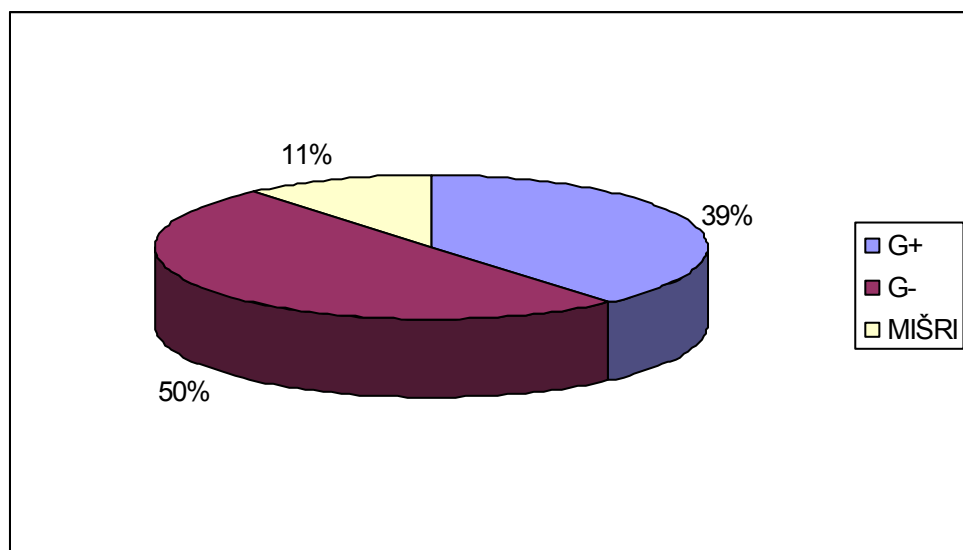
Tarp kintamųjų analizei taikytas neparametrinis Mann – Whitney testas. Rezultatai vertinti kaip statistiškai patikimi kai $p < 0,05$. Laboratorinių veiksmų rizikos vertinimo jautrumui ir specifiškumui palyginti naudotos ROC (Receiver Operating Characteristics) kreivės, apskaičiuojant plotą po kreive (Area Under the Curve, AUC). Jeigu AUC vertė mažiau kaip 0,5, žymuo nepasižymi prognostinėmis savybėmis. Jei AUC vertė daugiau kaip 0,7, žymuo gali būti naudojamas prognozavimui. Teigiama prognozuojama vertė (TPV) ir neigiama prognozuojama vertė (NPV) buvo paskaičiuotos kiekvienam ribiniam lygiui. Nustatyta ribinė veiksmų reikšmė („cut-off“) su optimaliu jautrumu ir specifiškumu. Statistinė analizė atlikta naudojant dešimtosios versijos SPSS („SPSS Inc.“, JAV) programą.

3. TYRIMŲ REZULTATAI

3.1. Kliniškai ir mikrobiologiškai patvirtintos infekcijos

Bakteriemiija buvo nustatyta 18 pacientų, kuriems pasireiškė 29 febrilinės neutropenijos epizodai. Septyni aukštos rizikos grupės bakterieminiai pacientai su dvylika febrilinės neutropenijos epizodų turėjo gram-teigiamus mikroorganizmus (*S.hominis* – 2, *S.epidermidis* – 2, *S.haemolyticus* – 2 ir *B.cereus* – 1). Gram-neigiama mikroflora buvo nustatyta devyniems pacientams su penkiolika febrilinės neutropenijos epizodų (*E.coli*-5, *K.pneumoniae*-1, *P.aeruginosa* – 2, *E.asberiae* – 1. Mišri flora dviems pacientams dviejuose epizoduose – *E.coli/B.cereus* ir *K.pneumoniae/S.haemolyticus*).

Pasiskirstymas pavaizduotas 1 paveiksle.



1 pav. Gram-teigiamos, gram-neigiamos ir mišrios mikrofloros pasiskirstymas.

Gram-neigiama bakteriemija nustatyta 50% taigiamų kraujo kultūrų atvejų (n=9), gram-teigiama bakteriemija nustatyta – 39% (n=7) ir mišri -11% atvejų (n=2).

3.2. Trijų dienų nuo febrilinės neutropenijos pradžios žemos rizikos grupės statistinė analizė

Analizuodami leukocitus, žemoje rizikos grupėje, nustatėme, kad mediana statistiškai nesiskyrė tris dienas nuo febrilinės neutropenijos pradžios. Nesiskyrė ir limfocitų bei monocitų absoliutus skaičius visas tris karščiavimo dienas. Limfocitai procentais pirmą karščiavimo dieną buvo didesni, nei kitas 2 dienas (1d.-83,6%; 2d-68,2%; 3d.-66,1%). Monocitų procentiškai mediana trečią karščiavimo dieną buvo didesnė, nei pirmas dvi dienas (1d.-3,89%; 2d.-4,74%; 3d.-9,5%)(2 lentelė).

2 lentelė. Žemos rizikos grupės leukocitų, limfocitų ir monocitų rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis.

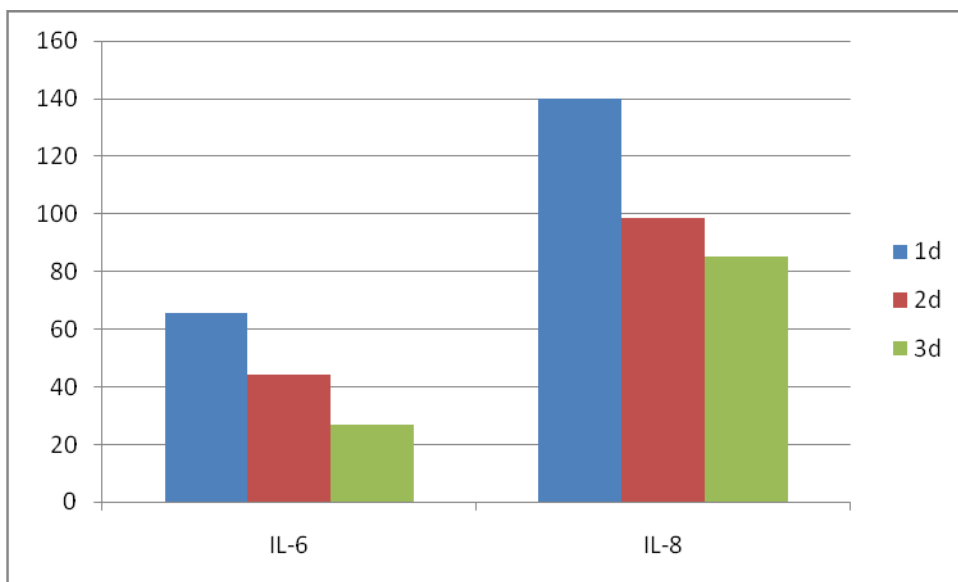
Dienos	Leukocitai(x10 ⁹ l)	Limfocitai (absol.sk.)	Limfocitai (%)	Monocitai (absol.sk.)	Monocitai. (%)
1 diena	0,643	0,471	83,6	0,017	3,89
2 diena	0,666	0,478	68,2	0,02	4,74
3 diena	0,65	0,403	66,1	0,027	9,5

Tirdami CRB koncentraciją nustatėme, kad pirmą dieną mediana buvo mažesnė, palyginus su antra ir trečia diena (1d.- 36,72 mg/l; 2d.- 70,85mg/l; 3d.-69,82mg/l). PCT koncentracija visas tris karščiavimo dienas nesiskyrė (3 lentelė).

3 lentelė. Žemos rizikos grupės uždegiminių veiksnių rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis.

Dienos	CRB (mg/l)	PCT (ng/l)
1 diena	36,72	0,269
2 diena	70,85	0,36
3 diena	69,82	0,31

Tirdami uždegiminių citokinų koncentraciją, žemoje rizikos grupėje, nustatėme, kad IL-6 koncentracija pirmą karščiavimo dieną buvo statistiškai reikšmingai didesnė, nei kitas dvi dienas (1d.-65,8 pg/ml; 2d.-44,4pg/ml; 3d.-27,1pg/ml). IL-8 koncentracijos mediana irgi buvo didesnė pirmąją karščiavimo dieną (1d.mediana- 140 pg/ml; 2d.-98,6pg/ml; 3d.-85,4 pg/ml)(2 pav.).



2 pav. Žemos rizikos grupės interleukinų rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis

3.3. Trijų dienų nuo febrilinės neutropenijos pradžios aukštos rizikos grupės statistinė analizė

Tirdami leukocitus, aukštoje rizikos grupėje, nustatėme, kad mediana statistiškai nesiskyrė pirmas dvi dienas nuo febrilinės neutropenijos pradžios, o trečią dieną šiek tiek didesnė (1d. – 0,18%; 2d. – 0,144%; 3d.- 0,256%). Nežymiai skyrėsi limfocitų bei monocitų absoliutus skaičius visas tris karščiavimo dienas. Limfocitai procentais pirmą ir trečią karščiavimo dieną buvo didesni, nei antrą dieną (1d.-85,1%; 2d-78,3%; 3d.-83,8%). Monocitų procentiškai mediana trečią karščiavimo dieną buvo didesnė, nei pirmas dvi dienas (1d.-1,59%; 2d.-2,82%; 3d.-4,3%) (4 lentelė).

4 lentelė. Aukštos rizikos grupės leukocitų, limfocitų ir monocitų rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis.

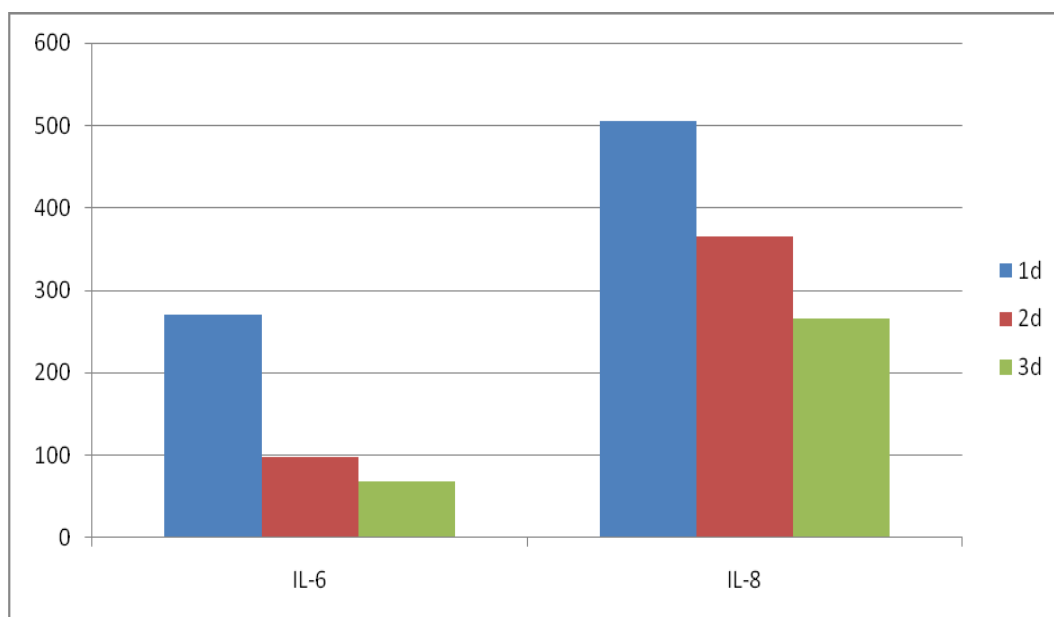
Dienos	Leukocitai (x10 ⁹ /l)	Limfocitai (absol.sk.)	Limfocitai (%)	Monocitai (absol.sk.)	Monocitai (%)
1 diena	0,18	0,15	85,1	0,003	1,59
2 diena	0,144	0,114	78,3	0,006	2,82
3 diena	0,256	0,155	83,8	0,008	4,3

Tirdami CRB koncentraciją nustatėme, kad pirmą dieną mediana buvo žymiai mažesnė, palyginus su antra ir trečia diena (1d.- 36,46 mg/l; 2d.- 110,21mg/l; 3d.-106,01mg/l). PCT koncentracija skyrėsi visas tris karščiavimo dienas, antrą karščiavimo dieną buvo didžiausia (1d. – 0,47ng/ml; 2d. – 4,25ng/ml; 3d. – 2,925ng/ml) (5 lentelė).

5 lentelė. Aukštos rizikos grupės uždegiminių veiksnių rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis.

Dienos	CRB (mg/l)	PCT (ng/l)
1 diena	36,46	0,47
2 diena	110,21	4,25
3 diena	106,01	2,95

Tirdami uždegiminių citokinų koncentraciją, žemoje rizikos grupėje, nustatėme, kad IL-6 koncentracija pirmą karščiavimo dieną buvo didesnė, nei kitas dvi dienas (1d. mediana - 270 pg/ml; 2d. - 97,8 pg/ml; 3d. - 68,7 pg/ml). IL-8 koncentracijos mediana irgi buvo didesnė pirmąją karščiavimo dieną (1d. - 506,0 pg/ml; 2d. - 365,5 pg/ml; 3d. - 266,0 pg/ml) (3 pav.).



3 pav. Aukštos rizikos grupės interleukinų rodikliai pirmomis trimis karščiavimo dienomis

Taip pat buvo vertinama ūmios fazės baltymai: CRB ir PCT bei citokinų IL-6 ir IL-8 koncentraciją kraujyje febrilinės neutropenijos metu pirmomis trimis karščiavimo dienomis abiejose grupėse.

Paskaičiuotas ūmios fazės baltymų ir citokinų koncentracijas žemoje ir aukštoje rizikos grupėje pirmomis trimis karščiavimo dienomis febrilinės neutropenijos metu iliustruoja 6 lentelė.

6 lentelė. Žemos rizikos grupės ir aukštos rizikos grupės CRB, PCT, IL-6, IL-8 koncentracijų medianos

Rodiklis	Diena	Žemos rizikos grupė	Aukštos rizikos grupė
CRB(mg/ml, mediana)	1diena	36,72	36,46
	2diena	70,85	110,21
	3diena	69,82	106,01
PCT(ng/ml, mediana)	1diena	0,269	0,47
	2diena	0,360	4,25
	3diena	0,310	2,95
IL-6(pg/ml, mediana)	1diena	65,8	270,0
	2diena	44,4	97,8
	3diena	27,1	68,7
IL-8(pg/ml, mediana)	1diena	140,0	506,0
	2diena	98,6	365,5
	3diena	85,4	266,0

Pirmąją karščiavimo dieną statistiškai nesiskyrė CRB ir PCT koncentracija abiejose rizikos grupėse tiriant serumą tris dienas nuo febrilinės neutropenijos pradžios. Tačiau antrą ir trečią dieną CRB ir PCT koncentracija buvo reikšmingai didesnė aukštos rizikos grupėje.

Analizuojant citokinų koncentracijas, nustatėme, kad IL-6 ir IL-8 koncentracija buvo didesnė aukštos rizikos grupėje pirmąją karščiavimo dieną. Taip pat visomis 3 karščiavimo dienomis aukštoje rizikos grupėje citokinų koncentracija buvo didesnė nei žemoje rizikos grupėje.

Trimis karščiavimo nuo febrilinės neutropenijos pradžios dienomis žemoje rizikos grupėje ir aukštoje rizikos grupėje tiriant kraują, buvo analizuojami leukocitai, monocitai, limfocitai.

Paskaičiuotus leukocitus, monocitus ir limfocitus žemoje ir aukštoje rizikos grupėse pirmomis trimis karščiavimo dienomis febrilinės neutropenijos metu iliustruoja 9 lentelė.

7 lentelė. Žemos rizikos grupės ir aukštos rizikos grupės leukocitų, monocitų, limfocitų duomenys

Rodiklis	Diena	Žemos rizikos grupė	Aukštos rizikos grupė
Leukocitai($\times 10^9/l$, mediana)	1diena 2diena 3diena	0,643 0,666 0,650	0,180 0,144 0,256
Limfocitai(absoliutus sk., mediana)	1diena 2diena 3diena	0,471 0,478 0,403	0,150 0,114 0,155
Limfocitai(% ,mediana)	1diena 2diena 3diena	83,6 68,2 66,1	85,1 78,3 83,8
Monocitai(absol.sk., mediana)	1diena 2diena 3diena	0,017 0,02 0,027	0,003 0,006 0,008
Monocitai(% ,mediana)	1diena 2diena 3diena	3,89 4,74 9,50	1,59 2,82 4,30

Analizuodami leukocitus nustatėme, kad visas pirmas tris dienas nuo febrilinės neutropenijos pradžios žemoje rizikos grupėje, medianos buvo didesnės, nei aukštoje rizikos grupėje. Taip pat limfocitų absoliutus skaičius žemoje rizikos grupėje buvo didesnis. Limfocitai (%) pirmą karščiavimo dieną buvo nežymiai didesni aukštoje rizikos grupėje, kitas dvi dienas skyrėsi labiau. Palyginus monocitus abiejose grupėse, žemoje rizikos grupėje monocitų skaičius buvo didesnis.

3.4. Žymenų variavimai tiriamosiose grupėse

Buvo analizuojamas leukocitų, limfocitų, monocitų jautrumas, specifiškumas, teigiama ir neigiama prognoztinės vertės, kad atskirti pacientus su bakteriemija arba kliniškai patvirtintu sepsiu (aukštos rizikos grupė) nuo žemos grupės pacientų (8 lentelė).

8 lentelė. Jautrumo, specifiškumo, neigiamos ir teigiamos prognoztinės vertės leukocitų, limfocitų, monocitų žemos rizikos grupės pranašumas prieš aukštos rizikos grupę.

Žymenys	Ribinė reikšmė	Jautrumas%	Specifiškumas %	TPV %	NPV %	AUC %	P reikšmė
Leukocitai($\times 10^9/l$)	>0,16	91,9	48,3	69,4	82,4	0,712	0,0007
Limfocitai %	>91,6	32,4	79,3	66,7	47,9	0,523	0,7459
Limfocitai absol.sk	>0,257	62,2	72,4	74,2	60,0	0,692	0,0029
Monocitai%	>2,78	62,2	72,4	74,2	60,0	0,653	0,0223
Monocitai absol sk.	>0,003	94,6	55,2	72,9	88,9	0,774	<0,0001

Aukščiausias jautrumas buvo nustatytas monocitų absol.sk. su 0,003 ribine verte ir tai sudarė 94,6%. Specifiškumas mažiausias leukocitų- 48,3%. Limfocitų(%, ir absol.sk.) ir monocitų(%) jautrumas buvo mažesnis nei specifiškumas.

Teigiama prognostinė vertė lyginant su neigiama prognostine verte buvo žemesnė leukocitų(TPV-69,4%; NPV-82,4%) ir monocitų absol.sk.(TPV-72,9%, NPV-88,9%).

Panaudodami ROC kriegių analizę nustatėme AUC reikšmes. Limfocitų% AUC buvo mažiausias – 0,523%, kai leukocitų – 0,712%; limfocitų absol sk. – 0,692%; monocitų% - 0,653%; monocitų absol.sk. – 0,774%.

9 lentelė. Jautrumo , specifiškumo neigiamos ir teigiamos vertės ūmios fazės baltymų(CRB, PCT) bei interleukinų(IL-6, IL-8) koncentracijų žemos rizikos grupės pranašumas prieš aukštos rizikos grupę .

Žymenys	Ribinė reikšmė	Jautrumas%	Specifiškumas %	TPV %	NPV %	AUC %	P reikšmė
CRB	<25,62	72,4	45,9	51,2	68,0	0,539	0,5872
PCT	<1,04	44,8	94,6	86,7	68,6	0,746	0,0001
IL-6	<257	58,8	93,5	83,3	80,6	0,806	<0,0001
IL-8	<290	63,6	83,8	70,0	79,5	0,782	<0,0001

Taip pat buvo analizuojamas CRB, PCT, IL – 6 ir IL – 8 jautrumas, specifiškumas, TPV ir NPV kad atskirti aukštos rizikos grupės pacientus nuo žemos rizikos grupės pacientų pagal ROC kreivės ribinius lygius. Bendrai paėmus, jautrumas mažesnis nei specifiškumas, išskyrus CRB (jautrumas 72,4%, specifiškumas – 45,9%). Aukščiausias jautrumas buvo nustatytas CRB , su 25,62 ribine verte ir tai sudarė 72,4 %, bet TPV 51,12%. PCT, IL-6 ir IL-8 lyginant su jautrumu, specifiškumas buvo aukštesnis su 83,8 – 94,6% vertėmis.

Teigiama prognostinė vertė lyginant su neigiama prognostine verte buvo žemesne CRB(51,2%) ir IL-8(70%). IL-6 ir PCT teigiama prognostinė vertė didesne (TPV vertės varijavo nuo 83,3 – 86,7%, o NPV buvo ribose nuo 68,6 – 80,6%).

Panaudodami ROC kriedvių analizę nustatėme AUC reikšmes. C reaktyvaus baltymo AUC buvo mažiausias – 0,539%, kai PCT – 0,746, IL -6 – 0,806%, IL-8 – 0,782%.

3.5. Žemos rizikos ir aukštos rizikos grupių rodiklių palyginimas

Gautus ūmios fazės baltymų(CRB, PCT) ir interleukinų (IL-6, IL-8) koncentracijų pokyčius žemoje ir aukštoje rizikos grupėse iliustruoja 10 lentelė.

10 lentelė. Ūmios fazės baltymų (CRB, PCT) bei interleukinų (IL-6, IL-8) koncentracijų pacientų serume žemos ir didelės rizikos grupių palyginimas

Rodiklis	Žemos rizikos grupė	Aukštos rizikos grupė	P reikšmė Ž/A
CRB(mg/ml, mediana, ribos)	36,7200 (19,4782-61,1949)	36,4600 (27,9445-83,5308)	0,5874
PCT(ng/ml, mediana, ribos)	0,2690 (0,1912-3700)	0,4700 (0,3396-2,3132)	0,0007
IL-6 (pg/ml, mediana, ribos)	65,8000 (38,8587-105,6023)	270,000 (89,6685-962,2380)	0,0005
IL-8 (pg/ml, mediana, ribos)	140,0000 (82,2423-209-8395)	506,000 (197,0723-1168,4148)	0,0003

P(Ž/A) - p reikšmė lyginant žemos rizikos ir aukštos rizikos grupių rodiklius

Analizuojant gautus rezultatus matyti, jog CRB koncentracijų pokyčiai žemoje ir aukštoje rizikos grupėje yra panašūs. PCT koncentracija didesnė aukštos rizikos grupėje, lyginant su žema rizikos grupe(0,269ng/ml ir 0,47ng/ml, atitinkamai, p=0,0007).

Tiriant interleukinų koncentraciją, nustatėme, kad ir IL-6 ir IL-8 koncentracijos didesnės aukštos rizikos grupėje. IL-6 koncentracija lyginant žemos rizikos grupę su aukštos rizikos grupe reikšmingai didesnė ($p=0,0005$). IL-8 koncentracijos abiejose rizikos grupėse taip pat skyrėsi (140pg/ml ir 506pg/ml, atitinkamai, $p=0,0003$).

Gautus leukocitų, limfocitų, monocitų skaičiaus pokyčius žemoje ir aukštoje rizikos grupėse iliustruoja 11 lentelė.

11 lentelė. Leukocitų, limfocitų, monocitų skaičiaus pacientų kraujyje žemos ir didelės rizikos grupių palyginimas

Rodiklis	Žemos rizikos grupė	Aukštos rizikos grupė	P reikšmė
Leukocitai ($\times 10^9/l$, mediana, ribos)	0,6430 (0,3086-1,1779)	0,1800 (0,1128-0,6632)	0,0032
Limfocitai (absol.sk., mediana, ribos)	0,4710 (0,1622-0,6528)	0,1500 (0,0699-0,2574)	0,0078
Limfocitai (%, mediana, ribos)	83,600 (63,2992-92,1898)	85,1000 (60,7405-89,8167)	0,7467
Monocitai (absol.sk., mediana, ribos.)	0,0170 (0,100-0,0247)	0,0030 (0,000-0,0100)	0,0001
Monocitai (%, mediana, ribos)	3,8900 (2,2496-7,8606)	1,5900 (0,4840-2,7873)	0,0336

Lyginant leukocitus, limfocitus ir monocitus žemoje ir aukštoje rizikos grupėje, buvo nustatyta, kad leukocitų kiekis žymiai didesnis žemoje rizikos grupėje ($p=0,0032$), o limfocitai nežymiai didesni aukštoje rizikos grupėje ($p=0,7476$).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Šiame darbe nustatėme leukocitų, limfocitų, monocitų skaičių kraujyje febrilinės neutropenijos metu. Taip pat įvertinome ūmios fazės baltymų: CRB ir PCT bei citokinių IL-6 ir IL-8 koncentraciją kraujyje. Šiame tyrime sutelkėme dėmesį į pirmas tris karščiavimo dienas pas pacientus su febriline neutropenija ir į diagnostinę ūmios fazės baltymų, citokinių, leukocitų, limfocitų, monocitų reikšmę atskiriant pacientus su žema infekcijos rizika nuo aukštos infekcijos rizikos.

Tyrėme 45 pacientus sergančius onkohematologinėmis ligomis. Suskirstėme pacientus į dvi grupes pagal mikrobiologinių testų ir klinikinio pacientų įvertinimo rezultatus. Matavome leukocitų, limfocitų, monocitų skaičių kraujyje, taip pat CRB, PCT ir interleukinų koncentracijas tris dienas, jei absoliutus neutrofilų skaičius buvo mažesnis nei $0,5 \times 10^9/l$ ir esant karščiavimui ($\geq 38,5^\circ C$).

Pirma tyrimų diena yra svarbi bakterinės infekcijos rizikos prognozei. Pirmas tris dienas yra būtini patikimi žymenys, nustatantys bakterinės infekcijos riziką, nes mikrobiologinių tyrimų atsakymai dažniausiai gaunami po dviejų, trijų dienų, todėl svarbu turėti patikimas analites kurios galėtų padėti priimti tinkamą sprendimą dėl gydymo taktikos pasirinkimo.

Kaip jau minėta anksčiau, bakteriemija ir sepsis yra dažniausios febrilinės neutropenijos komplikacijos, minėtų uždegiminių žymenų: CRB, IL-6, IL-8, PCT koncentracijos, taip pat monocitų ir limfocitų skaičius onkohematologinio ligonio kraujyje yra svarbūs parametrai numatant tolesnę įvykių eigą, bei žemos (aukštos) infekcijos rizikos grupės nustatymą, esant febrilinei neutropenijai. 1996 m. Rackoff ir kt. nustatė, kad temperatūra $< 39^\circ C$ ir bendras monocitų skaičius $\geq 100/mm^3$ yra mažos rizikos rodikliai. Vėliau, 2000 m. Klassen ir kt. pridėjo normalų bendrą leukocitų skaičių ir bei gretutinių ligų nebuvimą kaip mažos infekcijos rizikos kriterijus [31]. Remiantis mokslinių tyrimų duomenimis CNS nepaliečiančios bakteriemijos didžiausias neigiamas prognostinis rodiklis yra procalcitoninas (94%), toliau seka IL – 6 (89%), CRB (88%) ir IL -8 (87%). Procalcitoninas su ribine (cut-off) 1.4 ng/ml reikšme, 10-20 valandomis nuo karščiavimo pradžios, yra didžiausias teigiamas prognostinis (67%) CNS nepaliečiantis rodiklis [34]. Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis ir kolegų tyrimo duomenimis, žymus procalcitonino reikšmės sumažėjimas stebėtas po infekcijos pasitraukimo, to tarpu infekcijai paūmėjus procalcitonino reikšmė padidėdavo.

Nustatėme jautrumo ir specifiškumo žymenis, pagal kuriuos galėtume atrinkti pacientus su žema bakterinės infekcijos rizika pirmomis karščiavimo dienomis. Aukščiausias jautrumas buvo nustatytas monocitų absol.sk. su 0,003 ribine verte ir tai sudarė 94,6%. Specifiškumas mažiausias leukocitų- 48,3%. Limfocitų(%, ir absol.sk.) ir monocitų(%) jautrumas buvo mažesnis nei specifiškumas. Oguz A. ir kitų tyrimo domenimis limfocitų skaičius 5-tą chemoterapijos dieną gali būti informatyvesnis febrilinės neutropenijos prognostinis rodiklis nei monocitų skaičius [46]. Vaikai, sergantys onkologinėmis ligomis, kuriems pasireiškia karščiavimas ir neutropenija ir kurių pradinis monocitų skaičius kraujyje yra $> 0,1 \times 10^9/l$, nepasižymintys liguistumu (liguistumas apibrėžiamas kaip hipotenzija, reikalaujanti skysčių invazijos, hipoksija reikalaujanti papildomo deguonies, kvėpavimo nepakankamumu, skausmu, kuriams malšinti naudojamos narkotinės medžiagos, vėmimu ir viduriavimu, kuriems reikalingi skysčiai organizmo funkcijų atsatymui) ir kurių CRB koncentracija yra normali, gali būti priskiriami žemos bakterinės infekcijos grupei ir jiems galima skirti švelnesnę gydymo terapiją [52].

Padidėjusi PCT reikšmė yra naudingas diagnostinis rodiklis, padedantis nustatyti ankstyvą sistemine infekcija, pacientams, sergantiems febriline neutropenija. PCT reikšmė: 0,5 -1,0 ng/ml būdinga lokalizuotai infekcijai, $> 1,0$ ng/ml reikšmė rodo galima bakterijų buvimą kraujotakoje, $>2,0$ ng/ml – galimas sepsinis atsakas. Tuo tarpu CRB ir IL-6 trūkumai neutropenijos metu yra mažas specifiškumas, kurį lemia pagrindinis susirgimas [15].

Lilenfield –Toal ir kolegų tyrimų rezultatai PCT ir CRB atžvilgiu yra panašūs, tačiau gauti skirtingi rezultatai dėl IL-6. Prokalcitonino ir IL-6 reikšmės žymiai skiriasi esant bakteriniams ir nebakteriniams epizodams, pvz: vidutinė PCT koncentracija pacientams su nebakterinės kilmės karščiavimu yra 0,2 ng/ml o, esant bakteriemijai 1,8 ng/ml. Vidutinė IL-6 koncentracija, pacientams sergantiems pneumonija, bet nesant bakteriemijos yra 301 pg/ml, 177 pg/ml esant nemikrobinės kilmės karščiavimui, tuo tarpu vidutinė IL-6 koncentracija esant bakteriemijai yra 942 pg/ml. Tuo tarpu lyginant CRB koncentracijas tokių pokyčių nepastebėta. Apibendrinant šio tyrimo rezultatus, galima teigti, jog PCT ir IL-6 koncentracijos yra žymiai patikimesni žymenis nei CRB numatant bakteriemijos riziką febrilinės neutropenijos pacientams [35].

Tiriant interleukinų koncentraciją, nustatėme, kad ir IL-6 ir IL-8 koncentracijos didesnės aukštos rizikos grupėje. IL-6 koncentracija lyginant žemos rizikos grupę su aukštos rizikos grupe reikšmingai didesnė ($p=0,0005$). IL-8 koncentracijos abiejose rizikos grupėse taip pat skyrėsi(140pg/ml ir 506pg/ml, atitinkamai, $p=0,0003$). Šie citokinai gali būti naudojami kaip ankstyvi žymenis febrilinės neutropenijos pradžioje vertinant bakterinės infekcijos riziką.

Analizuojant gautus rezultatus matyti, jog CRB koncentracijų pokyčiai žemoje ir aukštoje rizikos grupėje yra panašūs. PCT koncentracija didesnė aukštos rizikos grupėje, lyginant su žema rizikos grupe (0,269ng/ml ir 0,47ng/ml, atitinkamai, $p=0,0007$).

Vinfried V.Kern tyrimo duomenimis IL-6, IL-8 žymenys ir procalcitoninas yra labiau informatyvūs žymenys nei CRB koncentracijos, dviejų studijų metu nustatytas, didelis IL-8 specifiskumas, atmetant gramneigiamos kilmės bakteriemiją, jei organizmo temperatūra neviršija įprastinės ribos 0,5 ng/ml procalcitonino ribinė reikšmė (cut-off) gali būti naudojama atmetant bakteriemiją apskritai [56]. IL-8 per pirmas 24 karščiavimo valandas diferenciuoja bakterinius epizodus nuo nebakterinių. IL-6 buvo žymiai padidėja per pirmas 24 valandas, tik jei karščiavimas trunka ilgiau nei 3 dienas. CRB diferenciuoja pacientus su neaiškios kilmės karščiavimu nuo pacientų su lokalizuota infekcija, bet ne nuo pacientų su bakteriemija [53]. CRB koncentracija didėja per 24 val. veikiant uždegimą skatinantiems citokinams ir yra padidėjusi beveik visais uždegimo ar infekcijų atvejais. Todėl CRB gali būti naudojamas tik uždegiminiam procesui vertinti, tačiau neleidžia nuspėti nei karščiavimo trukmės, nei bakterines infekcijos rizikos [55]. Informatyviausias prognostinis žymuo, kuriuo remiantis galima diferencijuoti žemos ir aukštos rizikos febrilinės neutropenijos pacientus yra PCT, kadangi Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis duomenimis PCT taip pat yra gaminamas ir leukocitų, ko pasekoje jo diagnostinė vertė pacientams, sergantiems febriline neutropenija tampa vertinga [15]. PCT yra geriausias žymuo vertinant bakterinę ir virusinę infekciją pirmąją karščiavimo parą [55].

N. Buyukberber su kolegomis, tyrė IL-6, IL-8, CRB ir kitų žymenų koncentracijų pokyčius skirtingais febrilinės neutropenijos klinikiniais periodais: prieš chemoterapiją, afebriliu neutropenijos periodu po chemoterapijos, febriliu neutropenijos periodu ir atkryčio periode. Didžiausios šių žymenų koncentracijos nustatytos febrilios neutropenijos periode. Prognostiniu požiūriu svarbiausias buvo afebrilios neutropenijos periodas: IL-6, IL-8, CRB koncentracijos buvo padidėjusios, IL-8 koncentracijos padidėjimas pasižymėjo didžiausiu stabilumu skirtingose febrilinės neutropenijos stadijose [45].

5. IŠVADOS

1. Jautriausias (94,6%) žemos infekcijos rizikos prognostinis(AUC-0,774) žymuo yra monocitų absoliutus skaičius, kai ribinė reikšmė $>0,003 \times 10^9/l$.
2. Citokinai IL-6 ir IL-8 gali būti vertinami, kaip specifiskiausi žemos infekcijos grupės žymenys.
3. PCT yra bakterinę infekciją predisponuojantis veiksnys.
4. CRB yra nepakankamai jautrus rodiklis, vertinant žemos infekcijos rizikos grupę (jautrumas-72,4%, specifiskumas-45,9%).

SUMMARY

In Determining a low infection risk group during febrile neutropenia in children with oncohematological diseases

Blood cancer and/or related intensive chemotherapy may cause decreased host defense against infection. One of the key factors of infections process is treatment related neutropenia that is accompanied by fever. Patient with chemotherapy – related neutropenia and fever are usually hospitalized and treated on empirical intravenous broad – spectrum antibiotic regimen. Early diagnosis of sepsis in children with febrile neutropenia remains difficult due to non – specific clinical and laboratory signs of infection. Therefore it is very important in clinical practice have a sensitive and specific immunological marker, which helps children with febrile neutropenia attributed to the low risk of infectious disease, thereby avoiding unnecessary use of antibiotics and long – term hospitalization.

The objective was to evaluate the process of infection and immune response driven markers (cytokines, acute phase proteins) changes in the early infections process in order to identify children with low – infection risk group, suffering from oncohematological diseases.

The target group consists of fortyfive oncohematology patient with febrile neutropenia which were treated in Vilnius University hospital of children, from 2009 – 2010.

Were analyzed the sixtysix epizodes of febrile neutropenia. According to clinical and microbiological parameters were divided into low risk and high risk groups. Low – risk group included patients with febrile episodes, a negative blood culture and the absence of clinically documented infections (n= 27; 60%).

High – risk group consisted of patients with positive blood cultures and clinically documented sepsis(n= 18, and 40%).

The results is that the most sensitive(94.6%) low risk of infection prognosis (AUC – 0,774) consist of an absolute number of monocytes, which threshold value is $>0,003 \times 10^9/l$. Cytokines IL –

8 may be seen as a very specific infection group markers. PCT is a predisposing factor for bacterial infection. CRP is not sufficiently sensitive indicators to measure the low infection risk group (sensitivity, 72,4%, specificity – 45,9%).

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Abbas AK. Cellular and molecular immunology. 6 th ed. Philadelphia:Saunnders Elsevies, 2010:267-301.
2. Adomaitienė D, Janulevičiūtė N, Kazakevičius R, Vaičiuvėnas V. Klinikinės imunologijos įvadas. 2001;253.
3. Armstrong D, Young LS, Meyer RD, Blevins AH. Infectious complications of neoplastic disease. Medical Clinics of North America. 1971; 55: 729–45.
4. Basu S.K., Fernandez I.D., Fisher S.G., Asselin B.L. & Lyman G.H.(2005) Length of stay and mortality associated with febrile neutropenia among children with cancer. Juornal of Clinical Oncology, 23, 7958-7966.
5. Brunkhorst FM, Eberhardt OK, Haubitz M, et al. Procalcitonin for discrimination between activity of systemic auto immune disease and systemic bacterial infection. Intensiv Care Med 2000;26:199-21.
6. Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF. Procalcitonin (PCT) is useful in predicting the bacterial origin of an acute circulatory failure in critically ill patients. Intensiv Care Med 2000;26:164.
7. Castagnola E, Fontana V, Caviglia I, Caruso S, Faraci M, Fioredda F, et al. A prospective study on the epidemiology of febrile episodes during chemotherapy – induced neutropenia in children with cancer or after hemopoietic stem cell transplantation. Clin Infect Dis 2007; 45: 1296–202.
8. Chavey C, Freund A, Durand S and Lazennec G. IL-8 is a novel marker for breast cancer. Breast Cancer Research. 2005; 7(2) : 4.11.
9. Christ-Crain M. et. Al., Efect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections:cluster-randomised sinleblinded interventiot trial. Lancet 2004 363(9409) 600-607.
10. Cozen W, Gill PS, Ingles SA, Masood R, Martínez-Maza O, Cockburn MG, et al. IL-6 levels and genotype are associated with risk of young adult Hodgkin lymphoma. Blood. 2004 Apr. 15;103(8): 3216–21.
11. Crokaert F. Febrile neutropenia in children. Int J Antimicrob Agent. 2000; 16: 173–7.
12. Dandona P. et al., Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects, Journal of clinical endocrinology and metabolism 1994 79(6) 1605-1608.
13. Danilatou V., Mandakis E., Galanakis E., Stiakaki E., Kalmanti M. Three cases of viridians

group streptococcal bacteraemia in children with febrile neutropenia and literature review. *Scand J Infect Dis.* 2003;35:873-6.

14. Di Maio M., Gridelli C., Gallo C. et al. Chemotherapy-induced neutropenia and treatment efficacy in advanced non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of three randomised trials *Lancet Oncol.* – 2005, 6, p. 669–677. 11.
15. Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Garyfallia Poulakou¹, Konstantinos Anargyrou, Nikolaos Katsilambros, Helen Giamarellou. Assessment of Procalcitonin as a Diagnostic Marker of Underlying Infection in Patients with Febrile Neutropenia *Clin Infect Dis.* (2001) 32 (12): 1718-1725.
16. Gattas DJ ir kt. *J CritCare* 2003.
17. Gramm H, Beier W, Zimmermann J, et al. Procalcitonin (PCT) a biological marker of the inflammatory response with prognostic properties. *Clin Intens Care* 1995;6:71-78.
18. Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, GY Yu, S Vallabhapurapu S, Scheller J et al. IL-6 and stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis associated cancer. *Cancer Cell.*2009;15: 103–13.
19. Hann I., Viscoli C., Paesmans M., Gaya H. & Glauser M.(1997). A comparison of outcome from febrile neutropenic episodes in children compared with adults: results from four retrospective studies. *British journal of Haematology*, 99, 580-588.
20. Henderson E.S., Lister T. A., Greaves M.F. *Leukemia*. 6th ed.1996.
21. Hensel M, Volk T, Docke WD, et al. Hyperprocalcitonemia in patient with noninfectious SIRS and pulmonary dysfunction associated with cardiopulmonary bypass. *Anesth* 1998;89: 93- 10.
22. Heuser M., Ganser A., Bokemeyer C. American Society of Clinical Oncology; National Comprehensive Cancer Network; European Organization for Research and Treatment of Cancer. Use of colony-stimulating factors for chemotherapy-associated neutropenia: review of current guidelines // *Semin Hematol.* – 2007, 44(3), p. 148–156.
23. Hipenstiel S, Soeth S, Kella B, et al. Rho proteins and the p38-MAPK pathway are important mediators for LPS-induced interleukin-8 expression in human endothelial cells. *Blood.* 2000;95:3044-3051.
24. Hughes WT, Armstrong D., Bodey GP, et al.(Mar 2002). ‘‘2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer’’. *Clin.Infect.Dis*34(6): 730-51.
25. James N Jarvis Commentary – ordering lab tests for suspected rheumatic disease *Pediatric Rheumatology* 2008, 6:19.
26. Janulevičiūtė N., Bagdonaitė L. Citokinai. *Laboratorinė medicina.* 2007, t. 9, Nr. 3(35),

134-138.

27. Jacqueline Bromberg and Timothy C. Wang. Inflammation and Cancer: IL-6 and STAT3 Complete the Link. *Cancer Cell*. 2009; 15(2): 79–80.
28. Jucaitienė R., VUL, KČTH skyrius 2006m.
29. Jurgelionienė S., Šergalienė O.. Hematologinių ir klinikinių tyrimų metodai. Vilnius 1988.
30. Jurgelionienė S., Šergalienė O.. Klinikinių laboratorinių tyrimų metodai. Vilnius 1995
31. Klaassen RJ, Goodman TR, Pham B, Doyle JJ. ‘‘Low-risk’’ prediction rule for pediatric oncology patients presenting with fever and neutropenia. *J Clin Oncol*. 2000;18:1012-9
32. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J, Cosler LE, Lyman GH. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer* 2006; 106: 2258–66.
33. Kučinskienė Z. A. Laboratorinių tyrimų žinynas.
34. Lennart Persson, Per Engervall, Anders Magnuson, Tomas Vikerfors, Bo Söderquist, Lars-olof Hansson and Ulf Tidefelt Use of Inflammatory Markers for Early Detection of Bacteraemia in Patients with Febrile Neutropenia 2004, 36 (5), p 365-371.
35. Lilienfeld-Toal, Dietrich M, Glasmacher A, Lehmann L, Breig P; Hahn, C, Schmidt-Wolf, I, Marklein, G, Schroeder S, Stuber F, Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies: procalcitonin and IL-6 are more reliable than C-reactive protein. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23 (7), 2004, 539-544.
36. Lucas KG, Brown AE, Armstrong D, Chapman D, Heller G. Identification of febrile neutropenic children with neoplastic disease at low risk for bacteremia and complications of sepsis. *Cancer* 1996; 77: 791–7.
37. Madsen K., Rosenman M., Hui S. & Breitfeld P.P. (2002) Value of electronic data for model validation and refinement: bacteremia risk in children with fever and neutropenia. *Journal of Pediatric Hematology and Oncology*, 24, 256-262.
38. Mascheymer G., Ostermann H., Richter G. Guidelines of the infectious diseases working party the German Society of Hematology and Oncology. *Ann Hematol*. 2003;82 Suppl 2:S105-17.
39. Meisner M. Procalcitonin - a new, innovative marker for severe infection and sepsis. 1- 80.1996.Berlin.
40. *Medicina (Kaunas)* 2004; 40 (7): 696-701.
41. Meisner M, Tschakowsky K, Spiel Ch, et al. Procalcitonin a marker or modulator of the acute immune response *Inten Care Med* 1996; 22:14-19.

42. Milašienė V., Stratilaitovas E. Citokinių funkcija. Jų reikšmė vėžiu sergančių pacientų imuninei sistemai. *Mediconos teorija ir praktika* 2009- T.15(Nr. 4)344-348.
43. Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL-8 in pulmonary diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;284:566-L577.
44. Müller B. et al., *JCEM* 2001.
45. Nuray Buyukberber, Süleyman Buyukberber, Alper Sevinc and Celalettin Camci Cytokine concentrations are not predictive of bacteremia in febrile neutropenic patients. *Medical Oncology* 26 (1), 55-61.
46. Oguz A, Karadeniz C, Ckitak EC, Cil V. Which one is a risk factor for chemotherapy-induced febrile neutropenia in childhood solid tumors: early lymphopenia or monocytopenia? *Pediatr Hematol Oncol.* 2006 23(2):143-51.
47. Paul M, Yahav D, Fraser A, Leibovici L (Feb 2006). Empirical antibiotic monotherapy for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials'. *J. Antimicrob. Chemother.* 57(2):176-89.
48. Praškevičius A., Ivanovienė L., Stasiūnienė N., Burneckienė J., Radovičius H., Lukoševičius L., Kondratas D. *Biochemija*. Kaunas: KMU leidykla, 2003.
49. Racko. WR, Gonin R, Robinson C, Kreissman SG, Breitfeld PB. Predicting the risk of bacteremia in children with fever and neutropenia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 919–924.
50. Ragelienė L., *Vaikų hematologija*. Vilnius, 2002.
51. Raugalė A., Bubnaitienė V., Ėmužytė R., Grinkevičiūtė D., Gurskis V. ir kt. *Vaikų ligos*. III tomas. Vilnius: VU leidykla; 2005.195-202,224-249.
52. Robert J. Klaassen, T. Robin Goodman, Ba Pham, John J. Doyle Low-Risk" Prediction Rule for Pediatric Oncology Patients Presenting With Fever and Neutropenia. *Journal of Clinical Oncology*, 18 (5) , 2000;
53. Spasova MI, Terzieva DD, Tzvetkova TZ, Stoyanova AA, Mumdzhev IN, Yanev IB, Genev ED Interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, and C-reactive protein in febrile neutropenia in children with malignant diseases. *Folia med (Plovdiv)*. 2005;47(3-4):46-52.
54. Steine-Martin A., Lotspeich-Steininger C.A., Koepke J.A. *Clinical hematology; principles, procedures, correlations*. 2nd. Lippincott. 1998.
55. Urbonas V., Eidukaitė A., Tamulienė I., Ragelienė L., Burokienė S., Raistenskis J., Tamošiūnas V. Interleukinų vertė febrilinės neutropenijos metu nustatant vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis, mažos bakteremijos rizikos grupę. *Medicinos teorija ir praktika* 2010 - T. 16 (Nr. 2) 117-123.

56. Winfried V. Kern Risk Assessment and Treatment of Low-Risk Patients with Febrile Neutropenia *Clin Infect Dis.* (2006) 42 (4): 533-540.
57. Zachary T. Schafer and Joan S. Brugge. IL-6 involvement in epithelial cancers. *J Clin Invest.* 2007; 117(12): 3660–3.
58. Zaleckis G. Pagrindinių laboratorinių tyrimų žinynas. Vilnius; 2002.
59. Zhu Y M, Webster S J, Flower D and Woll P J. Interleukin-8/CXCL8 is a growth factor for human lung cancer cells. *British Journal of Cancer.* 2004; 91:1970–6.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju Dr. Audronei Eidukaitei už pasiūlytą darbo temą, suteiktą galimybę ir skatinimą tobulėti. Už visapusišką pagalbą, vertingus patarimus viso darbo metu ir begalinę kantrybę.

Dėkoju Vilniaus Universiteto Vaikų ligoninės Klinikinės-biocheminės laboratorijos darbuotojams už pagalbą įsisavinant tyrimo metodus.