



## Joel Jämsä

LT, erikoistuva lääkäri  
Lapin keskussairaala  
joel.jamsa[a]lshp.fi

# VALKOSOLUJEN PINTAMOLEKYYLIEKSPRESSION ANALYSOINTI VIRTAUSSYTOTOMETRIALLA KRIITTISESTI SAIRAILLA SEPSISPOTILAILLA JA VERROKEILLA

Joel Jämsä

16.6.2017

## Vastaväittäjä:

Dosentti Annika Takala, Valvira

## Esitarkastajat:

Dosentti Pia Isomäki, Tampereen yliopisto

Dosentti Esa Rintala, Turun yliopisto

## Väitöskirja ja osatyöt

Flow cytometric analysis of leukocyte surface molecule expression in critical illness. Comparison between septic and non-septic patients. <http://julkika.oulu.fi/Record/isbn978-952-62-1577-8>

- I. Jämsä, J., Huotari, V., Savolainen, E.-R., Syrjälä, H., & Ala-Kokko, T. (2011). Analysis of the temperature affects on leukocyte surface antigen expression. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 25(2), 118-125.
- II. Jämsä, J., Huotari, V., Savolainen, E.-R., Syrjälä, H., & Ala-Kokko, T. (2015). Kinetics of leukocyte CD11b and CD64 expression in severe sepsis and non-infectious critical care patients. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 59(7), 881-891.
- III. Jämsä, J., Syrjälä, H., Huotari, V., Savolainen, E.-R., & Ala-Kokko, T. (2017). Monocyte and lymphocyte surface molecules in severe sepsis and non-septic critically ill patients. *APMIS*. doi: 10.1111/apm.12670.
- IV. Jämsä, J., Ala-Kokko, T., Huotari, V., Ohtonen, P., Savolainen, E.-R., & Syrjälä, H. Neutrophil CD64, C-reactive protein, and procalcitonin in the identification of sepsis in the ICU – post-test probabilities. *Käsikirjoitus*.

► Sepsis on vaikea yleisinfektio, johon hoitomenetelmien kehittymisestä huolimatta edelleen liittyy korkea, jopa yli 20 % sairaalakuolleisuus (1). Nykyään sepsiksen määrittelyyn kuuluu infektio, johon liittyy elintoiminnan häiriö (2). Sepsiksen ennusteen kannalta taudin nopea tunnistaminen ja viiveetön antibiootitihoidon aloittaminen ovat tärkeitä (3). C-reaktiivinen proteiini (CRP) ja prokalsitoniini (PCT) ovat käytetyimpiä tulehdusmerkkiaineita teho-osastolla, mutta kliinisen epäilyn lisäksi ei toistaiseksi ole laboratoriomenetelmää, joka luotettavasti erottaisi sepsistä sairastavat niistä kriittisesti sairasta, joilla ei ole infektiota (4). Valkosolut aktivoituvat elimistön eri tulehdustiloissa ja valkosolujen pintamolekyylien käyttökelpoisuutta infektiomerkkiaineena on tutkittu jonkin verran (5).

## Tutkimuskysymys ja metodit

Väitöskirjatutkimuksessa selvitettiin, voiko valkosolujen pintamolekyyli-ekspressiota käyttää sepsiksen merkkiaineena kriittisesti sairailta potilailla ja verrattiin pintamolekyylien diagnostista osuvuutta CRP ja PCT-arvoihin. Mielenkiinnon kohteina olivat neutrofiilien CD11b ja CD64, monosyyttien CD11b, CD14, CD40, CD64, CD80 ja HLA-DR, sekä lymfosyyttien CD69 (erikseen CD4+ ja CD8+ T-soluilla, NK-soluilla ja B-soluilla). Väitöskirja koostui neljästä osatyöstä, joista ensimmäisessä osatyössä pohdittiin virtausytometriaa menetelmänä ja etsittiin optimaaliset olosuhteet kvantitatiiviseen virtausytometriaan määrittämällä näytteen käsittely- ja säilytyslämpötilan, säilytysajan sekä näytenputken antikoagulantin vaikutuksia tuloksiin.

Toisessa ja kolmannessa osatyössä tutkittiin valkosolujen pintamolekyylien kineetiikkaa eri potilasryhmissä ja pintamolekyyliexpressio kykyä erottaa sepsispotilaat muista ryhmistä. Potilasaineiston kolmessa viimeisessä osatyössä muodostivat teho-osastolla hoidetut sepsispotilaat, lyövän sydämen tekniikalla hoidetut ohitusleikkauspotilaat sekä teho-osaston potilaat, joilla ei ollut yleistynyttä tulehdusvastetta hoidon alkaessa. Verinäytteitä otettiin kolmena peräkkäisenä hoitopäivänä. Kaksi jälkimmäistä ryhmää yhdistettiin yhdeksi kontrolliryhmäksi, kun tutkittiin merkkiaineiden diagnostista osuvuutta. Lisäksi mukana oli terveitä vapaaehtoisia erillisenä kontrolliryhmänä.

Väitöskirjatutkimuksen viimeisenä vaiheena verrattiin neutrofilien CD64:n ja yleisesti käytössä olevien CRP:n ja PCT:n diagnostista osuvuutta sepsiksen merkkiaineena. Lisäksi tutkittiin diagnostista osuvuutta usean merkkiaineen mallilla.

### Tulokset

Ensimmäisessä osatyössä havaittiin, että pintamolekyyliexpressio voi muuttua merkittävästi huoneenlämmössä tapahtuvan säilytyksen myötä. Erityisen herkkiä näytteiden käsittely- ja säilytyslämpötilan sekä säilytysajan vaikutuksille olivat CD11b, CD14 ja HLA-DR. Merkittävää eroa eri antikoagulanttien välillä ei todettu.

Toisessa ja kolmannessa osatyössä todettiin, että valkosolujen pintamolekyyliexpressio on sepsispotilailla korkeimmillaan hoidon alussa ja laskee seuraavina päivinä. Valkosolujen pintamolekyyleistä neutrofilien CD11b ja CD64, monosyyttien CD11b ja CD40 sekä CD4+ T-solujen ja NK-solujen CD69 erottivat sepsispotilaat muista tutkituista ryhmistä. Suurin käyrän alle jäävä pinta-ala (AUC) oli neutrofilien CD64:llä (0,99).

Neljännessä osatyössä todettiin, että neutrofilien CD64 oli parempi sepsiksen merkkiaine kuin teho-osastoilla yleisesti käytetyt PCT ja CRP. Kun huomioitiin yhtäaikaista otetut



Väittelijä Joel Jämsä, kustos, professori Tero Ala-Kokko ja vastaväittäjä, dosentti Annika Takala.

CD64, CRP ja PCT, diagnostinen osuvuus parani ja todennäköisyys sepsikselle oli 0,98, jos kaikki kolme ovat positiivisia, ja vastaavasti todennäköisyys sepsikselle oli alle 0,001, jos kaikki kolme ovat negatiivisia.

Tutkimuksessa monosyyttien ja neutrofilien CD11b oli korkeampi niillä sepsispotilailla, jotka menehtyivät viikon kuluessa tehohoidon alkamisesta. Lisäksi monosyyttien CD40 ja NK-solujen CD69 olivat korkeammat sepsispotilailla, joilla todettiin positiivinen veren bakteeriviljelylöydös.

### Pohdintaa

Virtausytometria-analyseissä näytteen säilytys- ja käsittelyolosuhteilla on merkitystä tulosten kannalta, ja standardisoitu, kvantitatiivinen virtausytometria voisi tehdä pintamolekyyliuloksista vertailukelpoisia eri laboratorioiden kesken. Eri menetelmien käyttö voi jopa selittää joitakin ristiriitoja aikaisemmissa tutkimuksissa. Valkosolujen pintamolekyylien käyttö diagnostisena apuvälineenä voisi parantaa sepsiksen tunnistamista kriittisesti sairailta. Tutkimuksessa paras sepsiksen merkkiaine oli neutrofilien CD64. PCT oli toiseksi

paras, mutta pintamolekyyleistä CD11b, CD40 ja CD69 olivat diagnostiselta osuvuudeltaan parempia kuin CRP. Valkosolujen pintamolekyyliil paransivat myös varhaisen kuolleisuuden ja veriviljelypositiivisuuden ennustamista. Neutrofilien CD64:n, PCT:n ja CRP:n yhdistelmä paransi entisestään sepsiksen diagnostiikkaa teho-osastolla. ■

### Viitteet

1. Poukkanen M, Vaara ST, Pettila V, ym. Acute kidney injury in patients with severe sepsis in Finnish Intensive Care Units. *Acta Anaesthesiol Scand.* 57: 863-872, 2013
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, ym. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 315: 801-810, 2016
3. Kumar A, Roberts D, Wood KE, ym. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 34: 1589-1596, 2006
4. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 50: 23-36, 2013
5. Venet F, Lepape A, Monneret G, ym. Clinical review: flow cytometry perspectives in the ICU - from diagnosis of infection to monitoring of injury-induced immune dysfunctions. *Crit Care.* 15: 231, 2011