Epidemiologie 2/05 31.3.2005 9:57 Stránka 54
proLékaře.cz | 29.11.2026

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 54, 2005, č. 2, s. 54–61

Imunologické monitorování sepse průtokovou cytometrií – kvantitativní stanovení exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech

Sedláčková L.[1], Průcha M.[1], Dostál M.[2]

[1]Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Na Homolce, Praha
[2]Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha

Souhrn

Sepse je závažné onemocnění s vysokou smrtností. V její patogenezi se uplatňují změny imunitní odpovídavosti hostitele od poškozující přestřelené zánětlivé odpovědi až po sekundární imunodeficienci – imunoparalýzu. Funkční stav monocytů odráží exprese HLA-DR na monocytech, infekční zánět ovlivňuje expresi CD64 na granulocytech. Oba parametry byly stanoveny u 49 pacientů v sepsi a 30 kontrolních osob pomocí nové standardizované kvantitativní metody průtokové cytometrie – QuantiBRITE, která umožňuje určit průměrný počet molekul znaku na povrchu jedné buňky. Analýza dat potvrzuje význam stanovení obou znaků u pacientů v sepsi. Exprese HLA-DR na monocytech u pacientů výrazně klesá a je jedním z faktorů spoluurčujících prognózu. Exprese CD64 na granulocytech u pacientů výrazně stoupá a koreluje s mediátory reakce akutní fáze, systémové infekce i kompenzační protizánětlivé odpovědi: interleukinem 6 (IL-6), lipopolysacharid vážícím proteinem (LBP), prokalcitoninem (PCT) a interleukinem 10 (IL-10). Oba znaky jsou přínosné především v rámci širšího panelu parametrů, při monitorování v čase a v kontextu klinického průběhu.

Klíčová slova: sepse – imunoparalýza – HLA-DR – CD64 – QuantiBRITE.

Summary

Sedláčková L., Průcha M., Dostál M.: Immunological Monitoring of Sepsis Using Flow Cytometry – Quantitation of Monocyte HLA-DR Expression and Granulocyte CD64 Expression

Background: Sepsis is a serious disease with a high case fatality rate. A variety of changes in the host immune responsiveness are observed in the pathogenesis of sepsis, ranging from detrimental hyperinflammation to profound immunoparalysis, i.e. acquired immunodeficiency. The level of monocyte HLA-DR expression reflects the functional status of monocytes as antigen-presenting cells and granulocyte CD64 expression is also indicative of infectious inflammation.
Material and Methods: Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression were measured in 49 septic patients and 30 healthy controls using flow cytometry focused on three parameters: positive cell percentage, mean fluorescence intensity and quantitation of antibodies bound per cell (QuantiBRITE).
Results: The significance of both monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression in septic patients was confirmed. Monocyte HLA-DR dramatically decreases in septic patients compared to controls, is one of the prognostic factors and correlates with C-reactive protein. In contrast, granulocyte CD64 sharply rises in patients with sepsis and correlates with mediators of systemic inflammation (procalcitonin – PCT), proinflammatory mediators (interleukin-6 – IL-6, lipopolysaccharide binding protein – LBP) and anti-inflammatory cytokines (interleukin-10 – IL-10).
Conclusion: Quantitative monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression are useful indicators in septic patients when considered along with the panel of other markers, monitored over a period of time and in the context of the clinical course of sepsis.

Key words: sepsis – immunoparalysis – HLA-DR – CD64 – QuantiBRITE.

Epidemiologie 2/05 31.3.2005 9:58 Stránka 55
proLékaře.cz | 29.11.2026

Sepse je závažné a poměrně časté onemocnění. V její patogenezi se uplatňuje široká škála změn imunitní odpovídavosti hostitele od přehnané zánětlivé a přitom nedostatečně účinné odpovědi až po neodpovídavost – imunoparalýzu. Smrtnost sepse zůstává i přes moderní antibiotickou léčbu a intenzivní péči vysoká, proto je výzkum patogeneze, nových možností diagnostiky aktuálního stavu imunity a návazně cílené léčby stále v centru pozornosti.

Imunoparalýza či deaktivace monocytů je indikovaná poklesem monocytární exprese HLA-DR – povrchové molekuly komplexu MHC II třídy účastnící se předkládání antigenů pomocným T lymfocytům a zahájení specifické imunitní odpovědi. Ve svém důsledku znamená pokles antigenprezentační schopnosti monocytů i kapacity monocytů syntetizovat prozánětlivé cytokiny (tumor nekrotizující faktor (TNF)-α, interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 a poruchu imunitní odpovědi Th1 typu, což bylo prokázáno sníženou reakcí oddálené buněčné přecitlivělosti na paměťové antigeny [25, 35, 36, 38]. Úroveň exprese HLA-DR na monocytech klesá u pacientů po těžkém traumatu, po velkých operačních výkonech abdominální chirurgie, neurochirurgických, kardiochirurgických, po transplantacích, u popálených, u pacientů s akutní pankreatitidou [2, 10, 12, 14, 18, 20, 23, 27–29, 32, 33–36, 39]. Neschopnost expresi zvýšit je asociována s výskytem infekčních komplikací, sepse a úmrtí na sepsi. Míra poklesu obvykle koreluje s tíží stavu. Při sledování v čase u septických pacientů byl největší pokles nalézán v časných fázích sepse, a to zároveň s projevy systémové zánětlivé odpovědi (SIRS, Systemic Inflammatory Response Syndrome): elevace IL-6, IL-8, TNF-α v séru, i kompenzační protizánětlivé odpovědi (CARS, Compensatory anti-inflammatory response syndrome): elevace IL-10 v séru, pokles monocytární kapacity produkovat TNF-α po stimulaci lipopolysacharidem (LPS) [27, 33, 39]. Fatální prognóza sepse bývá spojena buď s dlouhodobým nebo opětovným poklesem [33, 34, 39].

CD64, vysokoafinitní receptor pro Fc fragment imunoglobulinu G, FcγFI, jeden z účastníků procesu fagocytózy, je konstitutivně exprimován na monocytech a makrofázích [30, 37]. Na granulocytech zdravých osob je exprese zanedbatelná, ale dochází ke zvýšení u bakteriálních i virových infekcí, což bylo pozorováno např. u streptokokové faryngitidy, pneumonie, infekcí močových cest, erysipelu, peritoneálního abscesu, sepse, septického šoku [7, 9, 11, 13, 16]. Není ovlivněna léčbou kortikosteroidy, nestoupá u infarktu myokardu, nekomplikovaných operací, u revmatoidní artritidy v periferní krvi [5]. Může odlišit systémovou infekci od vzplanutí autoimunitního onemocnění [1]. Schopnost reagovat na infekci zvýšením exprese CD64 na granulocytech je přítomna i u novorozenců včetně předčasně narozených a též u HIV pozitivních pacientů [6, 15, 22].

Úroveň exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech se stanovuje průtokovou cytometrií, analýza se tradičně provádí buď určením procenta buněk populace monocytů nebo granulocytů nesoucích znak HLA-DR či CD64 (% pozitivních buněk) nebo stanovením průměrné intenzity fluorescence (MFI, mean fluorescence intensity) znaků HLA-DR resp. CD64 celé populace buněk (granulocytů nebo monocytů). Nevýhodou procentuálního vyjádření je, že neexistují oddělené populace buněk pozitivních a negativních pro tyto znaky, buňky tvoří jeden „oblak“ plynule přecházející z oblasti negativity do pozitivity, hranice se určuje individuálně podle negativní kontroly a je zatížena chybou subjektivního hodnocení. U MFI výsledek výrazně závisí na nastavení přístroje, použité monoklonální protilátce a její koncentraci, tedy v obou případech je obtížná mezilaboratorní standardizace. Tuto nevýhodu odstraňuje metoda QuantiBRITE, která nejlépe vyjadřuje kvantitu exprese, protože měří počet molekul znaku na povrchu buňky (vyjadřuje se v jednotkách ABC, antibody bound per cell). Pomocí mikročástic konjugovaných se 4 hladinami PE (phycoerythrinu) se provede kalibrace fluorescence 2 cytometru, určovaný znak (HLA-DR, CD64) je značen PE, monoklonální protilátky QuantiBRITE mají poměr molekul PE k molekulám protilátky 1:1. Podle kalibrační závislosti se naměřená intenzita fluorescence 2 (PE) přepočte na průměrný počet molekul znaku (HLA-DR, CD64) na jedné buňce. QuantiBRITE je díky lepší mezilaboratorní standardizaci vhodnější k provádění multicentrických studií.

Cílem této práce bylo stanovit HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech pomocí metody QuantiBRITE u zdravých osob a u pacientů v sepsi, porovnat s dosavadními dvěma způsoby stanovení – procentuální a průměrnou intenzitou fluorescence, u septických pacientů nalézt korelaci s dalšími parametry imunologického monitorování a smrtností a zhodnotit přínos metody pro diagnostiku, monitorování a predikci prognózy u sepse.

Materiál a metody

Soubor sepse: 49 pacientů splňujících kritéria sepse podle konsenzu ACCP/SCCM z r. 1991 [4], věkové rozmezí 24 až 82 let, věkový průměr 60,9 let, z toho 34 mužů a 15 žen; smrtnost v souboru 49 %, skupina přeživších: 25 pacientů, z toho 17 mužů (věkový průměr 48,1 let) a 8 žen (věkový průměr 56,8 let); skupina zemřelých: 24 pacientů, z toho 17 mužů (věkový

Epidemiologie 2/05 31.3.2005 9:58 Stránka 56
proLékaře.cz | 29.11.2026

průměr 67,4 let) a 7 žen (věkový průměr 63,6 let). Byly sledovány parametry: exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech – QuantiBRITE, procento pozitivních buněk (%) a průměrná intenzita fluorescence (MFI), C-reaktivní protein (CRP), absolutní počet leukocytů, prokalcitonin v séru (PCT), produkce TNF-α monocyty po stimulaci lipopolysacharidem, IL-6 v séru, IL-10 v séru, lipopolysacharid vážící protein (LBP) v séru, klasifikační skóre závažnosti stavu APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) a SOFA (Sequential Organ Failure Assesment), klinický výsledek (outcome, smrtnost během 28 dní od počátku sledování).

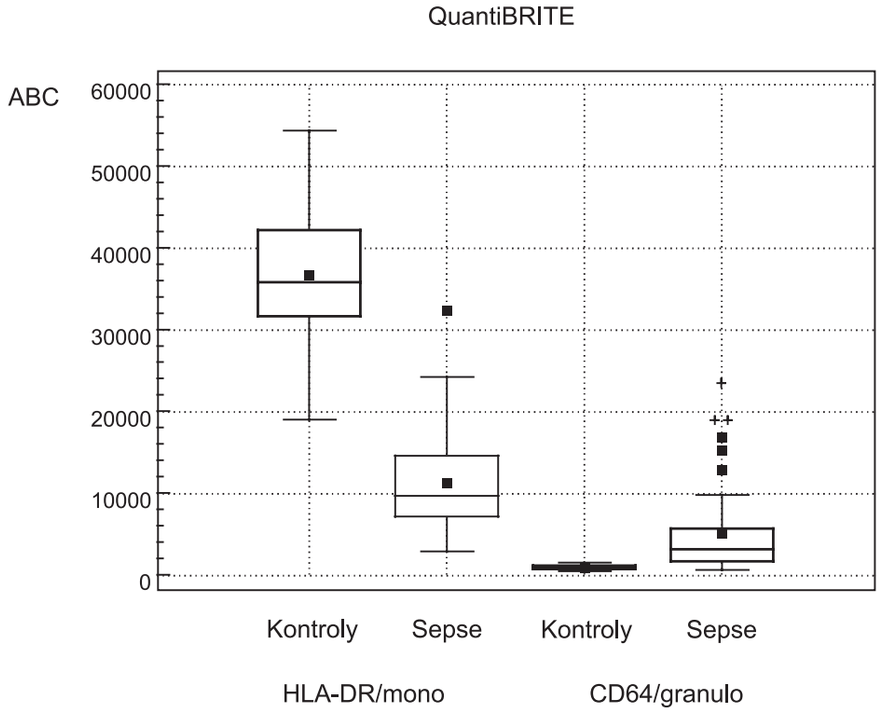
Soubor kontroly: 30 pacientů alergologické ambulance bez klinických a laboratorních známek infekce. Věkové rozmezí 15 až 61 let, věkový průměr 38,8 let, z toho 13 mužů a 17 žen. Byly stanoveny parametry: exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech – QuantiBRITE, procento pozitivních buněk (%) a průměrná intenzita fluorescence (MFI).

Vzorky plné krve s EDTA pro fenotypizaci byly zpracovány v den odběru. K měření exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech metodou QuantiBRITE byly použity originální patentované monoklonální protilátky firmy Becton Dickinson, San Jose, USA: QuantiBRITE Anti-HLA-DR PE/Anti-Monocyte PerCP-Cy5.5 (klony L243, MØP9) a QuantiBRITE CD64 PE/CD45 PerCP (klony MD22, 2D1). Ke stanovení exprese procentuálním podílem pozitivních buněk a průměrnou intenzitou fluorescence byly použity monoklonální protilátky CD14/FITC

Tab. 1. Úroveň exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovená třemi různými metodami (QuantiBRITE, procentuální podíl, průměrná intenzita fluorescence) u souboru kontroly a souboru sepse. ABC = antibody bound per cell, počet molekul na povrchu jedné buňky; MFI = mean fluorescence intensity, průměrná intenzita fluorescence všech buněk; SD = směrodatná odchylka

Table 1. Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression determined by three methods (QuantiBRITE, positive cell percentage and mean fluorescence intensity) in septic patients and controls. ABC = number of antibody bound per cell; MFI = mean fluorescence intensity; SD = standard deviation

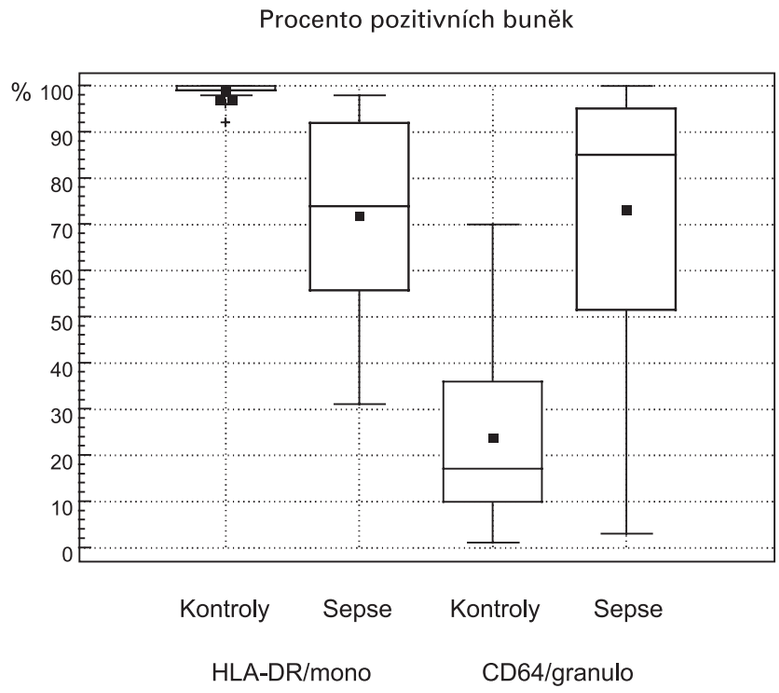
Výsledky		QuantiBRITE (ABC)		% pozitivních buněk		MFI	
		průměr	SD	průměr	SD	průměr	SD
Kontroly (n=30)	HLA-DR/mono	36 819	8779	98,8	1,65	1876	537
	CD 64/granulo	969	305	23,8	18,37	24	9
Sepse (n=49)	HLA-DR/mono	11 384	6113	71,9	19,2	601,7	461
	CD64/granulo	5191	5342	73,2	27,9	135,3	104,1



Graf 1. Úroveň exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovená metodou QuantiBRITE u souboru kontrol a souboru sepse. Čára uprostřed krabicového grafu představuje medián, horní a dolní okraj rámečku standardní odchylku (SD), kraje úsečky 2SD, bod uprostřed průměr, body mimo rámeček odlehlé hodnoty.

Fig. 1. Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression quantitated by the QuantiBRITE method in septic patients and controls. Lines inside the boxes represent medians, top and bottom lines represent SDs, margins represent 2SDs, inside squares are means, outside squares are outlying points.

proLékaře.cz | 29.11.2026



Graf 2. Úroveň exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovená metodou procenta pozitivních buněk u souboru kontrol a souboru sepse. Čára uprostřed krabicového grafu představuje medián, horní a dolní okraj rámečku standardní odchylku (SD), kraje úsečky 2SD, bod uprostřed průměr, body mimo rámeček odlehlé hodnoty.

Fig. 2. Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression determined by the positive cell percentage method in septic patients and controls. Lines inside the boxes represent medians, top and bottom lines represent SDs, margins represent 2SDs, inside squares are means, outside squares are outlying points.

(klon MØP9), HLA-DR/PE (klon L243), izotypová kontrola Rat Anti-Mouse IgG_{2a+b}/PE (klon X57) firmy Becton Dickinson, San Jose, USA a CD64/PE (klon10.1) a izotypová kontrola Mouse IgG1/PE (klon DAK-GO1) firmy DAKO Cytomation, Glostrup, Dánsko. Měření a analýza vzorků byla provedena na průtokovém cytometru FACS Calibur f. Becton Dickinson, San Jose, USA. Stanovení ostatních sledovaných parametrů: CRP laserovou nefelometrií na biochemickém analyzátoru Synchron LX20 firmy Beckman Coulter, USA; leukocyty na hematologickém analyzátoru Advia 120 firmy Bayer, Tarrytown, USA; prokalcitonin imunoluminiscencí soupravou PCT LIA firmy Brahms, Berlin, Německo na přístroji luminometr Berilux Analyzer 250 firmy Brahms, Berlin, Německo; produkce TNF-α monocyty po stimulaci LPS: stimulace monocytů inkubací plné krve lipopolysacharidem pomocí komerční soupravy Ex Vivo Whole Blood Stimulation Kit firmy Milenia Biotec, Bad Nauheim, Německo, koncentrace TNF-α v supernatantu, IL-6, IL-10 a LBP chemiluminiscencí soupravami firmy DPC, Los Angeles, USA na přístroji Immulite firmy DPC Cirrus, Randolph, USA.

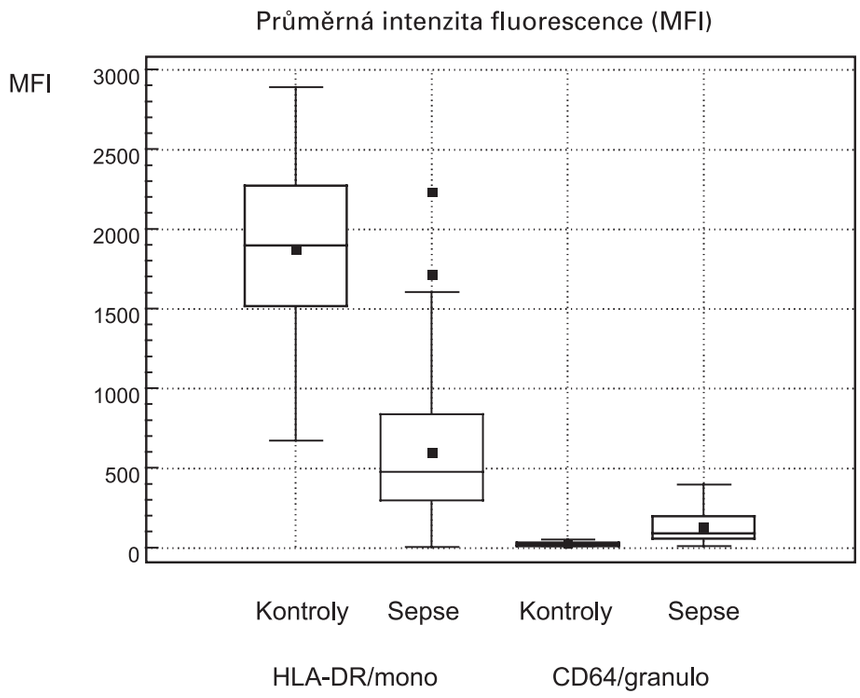
Výsledky souborů sepse a kontrol byly zpracovány statistickými metodami neparametrického testu Spearmanovy korelace (korelační koeficient rho) pro závislost mezi 2 metodami a neparametrického Kruskalova-Wallisova testu pro rozdíl mezi 2 skupinami. Statistická významnost $p<0,05$.

Výsledky

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovené procentuálně, MFI a metodou QuantiBRITE u zdravých osob a u septických pacientů (první měření). V grafu 1 jsou znázorněny výsledky exprese stanovené metodou QuantiBRITE, v grafu 2 vyjádřením procenta pozitivních buněk a v grafu 3 vyjádřením průměrné intenzity fluorescence. Výsledky pacientů se sepsí se významně liší od zdravých kontrol v obou znacích. Exprese HLA-DR na monocytech je u pacientů v sepsi výrazně snížená oproti kontrolám, exprese CD64 na granulocytech u septických pacientů je výrazně zvýšená oproti kontrolám. Statistická významnost rozdílu mezi souborem septických pacientů a souborem kontrol pro oba znaky podle Kruskalova-Wallisova testu je $p=0,0001$. V grafu 4 jsou výsledky jednotlivých pacientů ze souboru kontrol (•) a vstupních vyšetření ze souboru sepse (o) metodou QuantiBRITE. Překryv výsledků mezi skupinou kontrol a skupinou sepse je minimální pro oba znaky.

Výsledky všech tří metod spolu vzájemně dobře korelují pro oba znaky (všechna měření septických pacientů, n=148). Spearmanovy korelační koeficienty rho pro korelaci metod QuantiBRITE a procenta pozitivních buněk jsou 0,7912 pro HLA-DR na monocytech a 0,8 pro CD64 na granulocytech, pro korelaci metod QuantiBRITE

Epidemiologie 2/05 31.3.2005 9:59 Stránka 58
proLékaře.cz | 29.11.2026



Graf 3. Úroveň exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovená metodou průměrné intenzity fluorescence (MFI) u souboru kontrol a souboru sepse. Čára uprostřed krabicového grafu představuje medián, horní a dolní okraj rámečku standardní odchylku (SD), kraje úsečky 2SD, bod uprostřed průměr, body mimo rámeček odlehlé hodnoty.

Fig. 3. Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression determined by the mean fluorescence intensity method (MFI) in septic patients and controls. Lines inside the boxes represent medians, top and bottom lines represent SD, margins represent 2SD, inside squares are means, outside squares are outlying points.

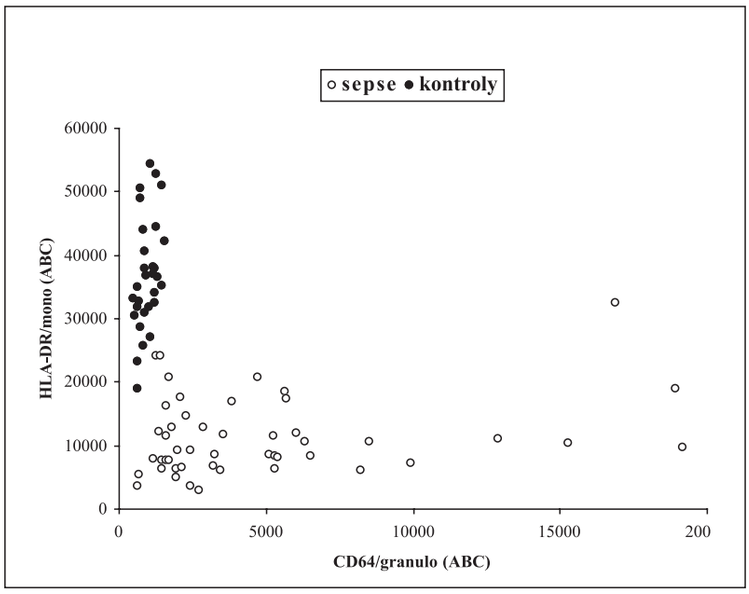
a průměrné intenzity fluorescence jsou 0,7397 pro HLA-DR na monocytech a 0,8825 pro CD64 na granulocytech, pro korelaci metod procentuální a průměrné intenzity fluorescence jsou 0,6711 pro HLA-DR na monocytech a 0,7923 pro CD64 na granulocytech, vše při hladině významnosti $p<0,00001$.

Statistickou analýzou výsledků prvních vzorků septických pacientů jsme hledali souvislost mezi kvantitativní expresí znaků HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovené metodou QuantiBRITE a ostatními sledovanými parametry: PCT, produkcí TNF-α monocyty po stimulaci LPS, IL-6, IL-10, LBP, CRP, celkovými leukocyty, APACHE II, SOFA. U HLA-DR na monocytech jsme prokázali statisticky významnou inverzní korelaci s CRP (Spearmanův korelační koeficient rho=-0,444, hladina statistické významnosti p=0,038). Pro CD64 na granulocytech jsme nalezli pozitivní korelaci s parametry: PCT (rho=0,438, p=0,002), IL-6 (rho=0,456, p=0,001), IL-10 (rho=0,422, p=0,003) a LBP (rho=0,446, p=0,002). Neparametrickým testem Kruskala-Wallise jsme testovali rozdíly mezi skupinou pacientů přeživších sepsi a nepřeživších sepsi pro první a poslední měření každého pacienta. Nenalezli jsme statisticky významný rozdíl v expresi HLA-DR na monocytech ani CD64 na granulocytech (metodami QuantiBRITE, % pozitivity i MFI) pro první ani poslední měření. Skupiny se lišily ve výsledcích APACHE II skóre (pro první i poslední měření), pro poslední měření dále v SOFA, IL-6, IL-10, produkci TNF-α po stimulaci LPS a PCT (data neuvedena).

Diskuse

Výsledky souboru zdravých kontrol v HLA-DR na monocytech všemi třemi metodami souhlasí s publikovanými výsledky jiných autorů [21, 23, 35]. Výsledky CD64 na granulocytech metodou QuantiBRITE rovněž souhlasí s literaturou [1], procentuální podíl a MFI v našem souboru dávalo mírně vyšší hodnoty proti ostatním autorům [13, 16]. Vysvětlení může být v použití jiného klonu monoklonální protilátky, ale též v nedokonalém výběru zdravých kontrol – jednalo se o pacienty z alergologické ambulance, kteří byli v době odběru bez potíží a s normálními nálezy CRP, krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu, sedimentace erytrocytů, avšak eventuální nastu-

proLékaře.cz | 29.11.2026



Graf 4. Exprese HLA-DR na monocytech a CD64 na granulocytech stanovená metodou QuantiBRITE u souboru kontrol (•) a souboru sepse (o). Výsledky jednotlivých pacientů v jednotkách ABC (antibodies bound per cell).

Fig. 4. Monocyte HLA-DR expression and granulocyte CD64 expression determined by the QuantiBRITE method in septic patients (•) and controls (o). Results for individual study subjects indicated in ABC units (number of antibodies bound per cell).

pující virózu u některého z nich nelze zcela vyloučit.

Nově zavedená metoda QuantiBRITE koreluje dobře s doposud používanými – procentuálním podílem pozitivních buněk a průměrnou intenzitou fluorescence.

Nálezy u pacientů v sepsi se výrazně liší od zdravých kontrol, obě skupiny se téměř nepřekrývají, HLA-DR na monocytech výrazně klesá, CD64 na granulocytech výrazně stoupá, což je v souladu s literaturou [5–7, 13, 18, 20, 32–35, 39]; tato práce potvrdila platnost předchozích pozorování i pro kvantitativní metodu QuantiBRITE.

Korelaci HLA-DR na monocytech u pacientů v sepsi s ostatními sledovanými parametry jsme nalezli statisticky významnou pro jediný parametr – CRP, jedná se o inverzní závislost ve shodě s literaturou [33]. Oproti dřívějším výsledkům se u současného souboru nepotvrdila korelace s produkcí TNF-α po stimulaci LPS [26], ani některé další literaturou uváděné souvislosti: inverzní korelace s PCT [26, 33], IL-6 [17], IL-10 [29], APACHE II [17, 33, 39] a SOFA [33]. Příčinou by mohla být obrovská heterogenita sepse jako klinické jednotky či vliv chronických a přidružených onemocnění na sledované parametry. Ani výsledky uváděné v literatuře nejsou v této oblasti zcela konstantní, např. anglická práce se 70 septickými pacienty ve shodě s námi nenalezla souvislost HLA-DR na monocytech s APACHE II [24], další holandská práce u 20 septických pacientů nenalezla korelaci HLA-DR na monocytech se závažností stavu podle APACHE II, CRP a leukocytů [20].

Nalezli jsme korelaci CD64 na granulocytech s mediátorem zánětu IL-6 v souladu s literaturou [15], s mediátorem systémové bakteriální či plísňové infekce PCT – v souladu s předchozími výsledky [26], mediátorem kompenzační protizánětlivé odpovědi IL-10 a reaktantem akutní fáze LBP u pacientů v sepsi, což dohromady nepřímo potvrzuje význam CD64 na granulocytech jako ukazatele infekčního zánětu. Neprokázali jsme korelaci s parametry závažnosti (APACHE II, CRP, absolutní počet leukocytů), což je v souladu s literaturou [20].

Nenalezli jsme signifikantní rozdíl žádného ze sledovaných povrchových znaků mezi pacienty přeživšími sepsi a nepřeživšími. Vztah exprese HLA-DR na monocytech ke smrtnosti byl řadou prací opakovaně prokázán pro pacienty po velkém chirurgickém zákroku, se sepsí i septickým šokem, pankreatitidou, pokročilým onkologickým onemocněním [3, 18, 26, 28, 33–35, 39]. Ale objevují se i studie s opačnými výsledky, kde rozdíl mezi přeživšími a nepřeživšími není statisticky významný, jako je tomu i u našeho souboru [8, 20, 24]. Příčin rozdílných pozorování může být více. V literatuře se diskutují metodické rozdíly stanovení mezi laboratořemi [5, 19, 31], avšak naše výsledky dosažené všemi třemi způsoby včetně

Epidemiologie 2/05 31.3.2005 10:00 Stránka 60
proLékaře.cz | 29.11.2026

standardizované kvantifikační metody QuantiBRITE spolu vzájemně souhlasí. Větší vliv se zdá mít výběr pacientů a načasování vyšetření. Heterogenita sepse je veliká, je různorodý primární terén s přítomností limitujících chronických chorob (kardiovaskulární a plicní onemocnění, chronická renální insuficience, diabetes mellitus, neoplastický proces, preexistující imunodeficit…), a další faktory (např. iniciální trauma, imunosuprimující léčba, druh patogenu – bakteriální, mykotická agens, patogeny oportunní, patogeny multirezistentní k ATB, genetické dispozice hostitele), které též spoluurčují klinický výsledek, a ve kterých se různé soubory pacientů mohou výrazně lišit. V naší práci byla sledovaná celková 28denní smrtnost, nebyly dostupné údaje o přesné příčině smrti, která může v řadě případů být důsledkem jiných přidružených chorob a stavů. Podle některých prací nalézaná prediktivní hodnota jen v určité fázi onemocnění dokládá význam správné doby vyšetření [19, 28, 33, 34], což v této práci nebylo možno dostatečně ovlivnit – odběry se konaly podle indikace ošetřujících klinických lékařů. HLA-DR na monocytech je jedním, ale zřejmě ne jediným faktorem spoluurčujícím prognózu sepse. Přesné načasování (1. vyšetření do 24 hodin od splnění diagnostických kritérií sepse, následně denní a obdenní kontroly) za použití standardizované metody QuantiBRITE bude použito v plánované multicentrické studii, kterou připravuje evropská skupina pro imunomonitoraci sepse a které by se mělo účastnit i naše pracoviště. Absence korelace CD64 na granulocytech s prognózou je v souladu s publikovanými zdroji [13, 20].

Závěr

Význam vyšetření exprese HLA-DR na monocytech je v identifikaci dospělých i dětských pacientů se zvýšeným rizikem infekčních komplikací, sepse a úmrtí na sepsi pacientů po traumatech, operacích, a v kritickém stavu z jiné příčiny včetně sepse. CD64 na granulocytech je jako ukazatel zánětu infekční etiologie dalším užitečným markerem v intenzivní péči. Pro oba znaky již existuje standardizovaná kvantitativní metoda stanovení, která v této práci potvrdila význam stanovení obou u pacientů v sepsi. HLA-DR na monocytech v sepsi výrazně klesá proti zdravým, je markerem imunoparalýzy a jedním z faktorů spoluurčujících prognózu. CD64 na granulocytech stoupá výrazně proti zdravým a koreluje s mediátory reakce akutní fáze zánětlivé odpovědi, systémové infekce a kompenzační protizánětlivé odpovědi v sepsi: IL-6, LBP, PCT a IL-10. Oba povrchové znaky jsou přínosné především v rámci širšího panelu sledovaných parametrů, při monitorování v čase a v kontextu znalosti individuálního klinického průběhu.

Literatura

1. **Allen, E., Bakke, A. C., Purtzer, M. Z., Deodhar, A.** Neutrophil CD64 expression: Distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections. Ann. Rheum. Dis. 2002, 61, 6, s. 522–525.
2. **Asadullah, K., Woiciechowsky, C., Docke, W. D., Egerer, K. et al.** Very low monocytic HLA-DR expression indicates high risk of infection – immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy. Eur. J. Emerg. Med., 1995, 2, 4, s. 184–190.
3. **van Bokhorst- de van der Schueren, M. A. E., von Blomberg-van der Flier, B. M. E., Kuik, K. J., Scholten, P. E. T.** Survival of malnourished head and neck cancer patients can be predicted by human leukocyte antigen-DR expression and interleukin-6/tumor necrosis factor – alpha response of the monocyte. J. PEN, 2000, 24, 6, s. 329–336.
4. **Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B., Dellinger, R. P. et al.** Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest, 1992, 101, 6, s. 1644–1655.
5. **Davis, B. H.** Quantitative Neutrophil CD64 Expression: Promising Diagnostic Indicator of Infection or Systemic Acute Inflammatory Response. Clin. Immunol., 1996, 16, 9, s. 121–130.
6. **Fjaertoft, G., Hakansson, L., Ewald, U., Foucard, T., Venge, P.** Neutrophils from Term and Preterm Newborn Infants Express the High Affinity Fcγ-Receptor I (CD64) During Bacterial Infections. Pediatr Res, 1999, 45, 6, s. 871–876.
7. **Fischer, G., Schneider, E. M., Moldawer, L. L., Karcher, Ch. et al.** CD64 surface expression on neutrophils is transiently upregulated in patients with septic shock. Intensive Care Med., 2001, 27, s. 1848–1852.
8. **Fumeaux, T., Pugin, J.** Role of Interleukin-10 in the Intracellular Sequestration of Human Leukocyte Antigen-DR in Monocytes during Septic Shock. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2002, 166, s. 1475–1482.
9. **Guyre, P. M., Campgell, A. S., Kniffin, W. D., Fanger, M. W.** Monocytes and Polymorphonuclear Neutrophils of patients with Streptococcal Pharyngitis Express Increased Numbers of Type I IgG Fc Receptors. J. Clin. Invest., 1990, 86, s. 1892–1896.
10. **Haveman, J. W., van den Berg, A. P., van den Berk, J. M. M., Mesander, G. et al.** Low HLA-DR expression on peripheral blood monocytes predicts bacterial sepsis after liver transplantation: relation with prednisolone intake. Transpl. Infect. Dis., 1999, 1, s. 146–152.
11. **Herra, C. M., Keane, C. T., Whelan, A.** Increased expression of Fcγ receptors on neutrophils and monocytes may reflect ongoing bacterial infection. J. Med. Microbiol., 1996, 44, s. 135–140.
12. **Hershman, M. J., Cheadle, W. G., Welhausen, S. R.,**

Epidemiologie 2/05 31.3.2005 10:02 Stránka 61
proLékaře.cz | 29.11.2026

Davidson, P. F., Polk, H. C. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. Br. J. Surg., 1990, 77, 2, s. 204–207.
13. **Hirsh, M., Mahamid, E., Bashenko, Y., Hirsh, I., Krausz, M. M.** Overexpression of the high-affinity Fcγ receptor (CD64) is associated with leukocyte dysfunction in sepsis. Shock, 2001, 16, 2, s. 102–108.
14. **Klava, A., Windsor, A., Boylston, A. W., Reynolds, J. V. et al.** Monocyte activation after open and laparoscopic surgery. Br. J. Surg., 1997, 84, 8, s. 1152–1156.
15. **Layseca-Espinosa, E., Perez-Gonzalez, L. F., Torres-Montes, A., Baranda, L. et al.** Expression of CD64 as a potential marker of neonatal sepsis. Pediatr. Allergy Immunol., 2002, 13, s. 319–327.
16. **Leino, L., Sorvajarvi, K., Katajisto, J., Laine, M. et al.** Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo. Clin. Exp. Immunol., 1997, 107, s. 37–43.
17. **Lin, R. Y., Astiz, M. E., Saxon, J. C., Saha, D. C., Rackow, E. C.** Relationship between plasma cytokine concentrations and leukocyte functional antigen expression in patients with sepsis. Crit. Care Med., 1994, 22, 10, s. 1595–1602.
18. **Manjuck, J., Saha, D. C., Astiz, M., Eales, L. J., Rackow, E. C.** Decreased response to recall antigens is associated with depressed costimulatory receptor expression in septic critically ill patients. J. Lab. Clin. Med., 2000, 135, 2, s. 153–160.
19. **Monneret, G., Elmenkouri, N., Bohe, J., Debard, A. L. et al.** Analytical Requirements for Measuring Monocytic Human Lymphocyte Antigen DR by Flow Cytometry: Application to the Monitoring of Patients with Septic Shock. Clin. Chem., 2002, 48, 9, s. 1589–1592.
20. **Muller Kobold, A. C., Tulleken, J. E., Zijlstra, J. G., Sluiter, W. et al.** Leukocyte activation in sepsis; correlations with disease state and mortality. Intensive Care Med., 2000, 26, s. 883–892.
21. **Nebe, C. T.** Flow Cytometric Analysis of Immunoparalysis. Clin. Lab., 1998, 44, 6, s. 441–446.
22. **Ng, P. C., Li, K., Wong, R. P. O., Chui, K. M., Wong, E., Fok, T. F.** Neutrophil CD64 Expression: A Sensitive Diagnostic Marker for Late-Onset Nosocomial Infection in Very Low Birthweight Infants. Pediatr. Res., 2002, 51, 3, s. 296–303.
23. **Oczenski, W., Krenn, H., Jilch, R., Watzka, H. et al.** HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery. Intensive Care Med., 2003, 29, 8, s. 1253–1257.
24. **Perry, S. E., Mostafa, S. M., Wenstone, R., Shenkin, A., McLaughlin, P. J.** Is low monocyte HLA-DR expression helpful to predict outcome in severe sepsis? Intensive Care Med., 2003, 29, s. 1245–1252.
25. **Piani, A., Hossle, J. P., Birchler, T., Siegrist, C. A. et al.** Expression of MHC class II molecules contributes to lipopolysaccharide responsiveness. Eur. J. Immunol., 2000, 30, s. 3140–3146.
26. **Průcha, M., Zazula, R., Kavka, B., Hyánek, J.** Imunoparalýza a infekční komplikace u kriticky nemocných. Anest. Neodkl. Péče, 2001, 12, 6, s. 320–323.
27. **Průcha, M., Herold, I., Zazula, R., Dubská, L., Kavka, B.** Monocytární deaktivace a produkce tumor nekrotizujícího faktoru α ex vivo – prognostické parametry u pacientů jednotek intenzivní péče. Anest. Intenziv. Med., 2003, 14, 5, s. 223–227.
28. **Richter, A., Nebe, T., Wendl, K., Schuster, K. et al.** HLA-DR expression in acute pancreatitis. Eur. J. Surg., 1999, 165, 10, s. 947–951.
29. **Sachse, Ch., Prigee, M., Cramer, G., Pallua, N., Henkel, E.** Association between reduced Human Leukocyte Antigen (HLA)-DR expression on Blood Monocytes and Increased Plasma Level of Interleukin-10 in Patients with Severe Burns. Clin. Chem. Lab. Med., 1999, 37, 3, s. 193–198.
30. **Scholl, P. R.** Immunoglobulin Fc Receptors in Clinical Immunology: Introduction. Clin. Immunol., 1996, 16, 9, s. 121–124.
31. **Spittler, A., Roth, E.** Is monocyte HLA-DR expression predictive for clinical outcome in sepsis? Intensive Care Med., 2003, 29, s. 1211–1213.
32. **Strohmeyer, J. Ch., Blume, Ch., Meisel, Ch., Doecke, W. D. et al.** Standardized Immune Monitoring for the Prediction of Infections After Cardiopulmonary Bypass Surgery in Risk Patients. Cytometry Part B (Clinical Cytometry), 2003, 53B, 54–62.
33. **Tschaikowsky, K., Hedwig-Geissing, M., Schiele, A., Bremer, F. et al.** Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of mononuclear histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients. Crit. Care Med., 2002, 30, 5, s. 1015–1023.
34. **Le Tulzo, Y., Pangault, C., Amiot, L., Guilloux, V. et al.** Monocyte human leukocyte antigen-DR transcriptional downregulation by cortisol during septic shock. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2004, 169, 10, s. 1144–1151.
35. **Volk, H. D., Reinke, P., Krausch, D., Zuckermann, H. et al.** Monocyte deactivation – rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. Intensive Care Med., 1996, 22, s. S474–S481.
36. **Volk, H. D., Reinke, P., Docke, W. D.** Clinical Aspects: From Systemic Inflammation to "Immunoparalysis". Chem. Immunol., 2000, 74, s. 162–177.
37. **Wallace, P. K., Howell, A. L., Fanger, M. W.** Role of FC gamma receptors in cancer and infectious disease. J. Leukoc. Biol., 1994, 55, 6, s. 816–826.
38. **Wolk, K., Docke, W. D., von Baehr, V., Volk, H. D., Sabat, R.** Impaired antigen presentation by human monocytes during endotoxin tolerance. Blood, 2000, 96, 1, s. 218–223.
39. **Yu, W. K., Li, W. Q., Li, N., Li, J. S.** Mononuclear Histocompatibility Leukocyte Antigen-DR Expression in the Early Phase of Acute Pancreatology, 2004, 4, 3–4, s. 233–243.

Do redakce došlo 1. 10. 2004

MUDr. Lenka Sedláčková
Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2
150 30 Praha 5