

# Markeri sepse

---

Žigman, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:324783>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-16**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Filip Žigman**

**Markeri sepse**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za Anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje KBC-a Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Slobodana Mihaljevića i predan je na ocjenjivanje u akademskoj godini 2020./2021.

Mentor rada: prof. dr. sc. Slobodan Mihaljević

## POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

ACTH, adenokortikotropni hormon, prema eng. *Adrenocorticotropic Hormone*

APACHE, prema eng. *Acute Physiology Assessment and Chronic Health Evaluation*

ARDS, akutni respiratorni distres sindrom, prema eng. *Acute Respiratory Distress Syndrome*

CLR, prema eng. *C-type lecitin receptor*

CRP, C-reaktivni protein

DAMP, prema eng. *Damage Associated Molecular Patterns*

FiO<sub>2</sub>, frakcija kisika u udahnutom zraku

GCS, prema eng. *Glasgow Coma Scale*

GVHD, prema eng. *Graft Versus Host Disease*

IL-1, interelukin 1

IL-6, interleukin 6

IL-8, interleukin 8

IL-10, interleukin 10

IL-12, interleukin 12

IL-18, interleukin 18

JIL, Jedinica intenzivnog liječenja

LBP, prema eng. *Lipopolysaccharide Binding Protein*

LPS, lipopolisaharid

MAP, prema eng. *Mean Arterial Pressure*

M-CSF, prema eng. *Macrophage- Colony Stimulating Factor*

MESF, prema eng. *molecules of equivalent soluble fluorochrome*

MFI, prema eng. *median fluorescence intensity*

mmol/L, milimol po litri

ng/mL, nanogram po mililitru

NLCR, prema eng. *Neutrophile to Lymphocyte Count Ratio*

NLR, prema eng. *NOD-like receptor*

NO, dušikov monoksid

NSAID, nesteroidni protuupalni lijekovi, prema eng. *Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs*

PaCO<sub>2</sub>, parcijalni tlak ugljikova dioksida

PAMP, prema eng. *Pathogen Associated Molecular Patterns*

PCR, prema eng. *Polymerase Chain Reaction*

PCT, prokalcitonin

pg/mL, pikogram po mililitru

PRR, prema eng. *Pattern Recognition Receptor*

qSOFA, prema eng. *quick Sequential Organ Failure Assessment*

RLR, prema eng. *RIG-1-like receptor*

SE, sedimentacija eritrocita

SIRS, prema eng. *Systemic Inflammatory Response Syndrome*

SLE, sistemni eritematozni lupus, prema eng. *Systemic Lupus Erythematosus*

SOFA, prema eng. *Sequential Organ Failure Assessment*

TREM-1, prema eng. *Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1*

sTREM-1, prema eng. *soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1*

TLR, prema eng. *Toll-like receptor*

TNF- $\alpha$ , Čimbenik tumorske nekroze alfa, prema eng. *Tumor Necrosis Factor alpha*

$\mu$ g/mL, mikrogram po mililitru

## SADRŽAJ

### POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

### SAŽETAK

### SUMMARY

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. SEPSIS-3 DEFINICIJE</b> .....	2
2.1. DEFINICIJA SEPSE.....	3
2.2. DEFINICIJA SEPTIČKOG ŠOKA .....	3
<b>3. EPIDEMIOLOGIJA SEPSE</b> .....	4
3.1. INCIDENCIJA I MORTALITET SEPSE.....	4
3.2. ETIOLOGIJA SEPSE.....	5
3.3. DUGOROČNI ISHODI.....	6
<b>4. PATOGENEZA SEPSE</b> .....	7
4.1. DOMAĆINOVO PREPOZNAVANJE PATOGENA.....	7
4.2. HIPERINFLAMATORNI ODGOVOR .....	9
4.2.1. SUSTAV KOMPLEMENTA.....	10
4.2.2. KOAGULACIJSKI SUSTAV I VASKULARNI ENDOTEL .....	10
4.2.3. KRVOTOK U SEPSI .....	13
4.3. IMUNOSUPRESIJA .....	14
4.3.1. APOPTOZA IMUNOSNIH STANICA .....	14
4.3.2. LIMFOCITNO ISCRPLJENJE .....	15
4.3.3. REPROGRAMIRANJE MONOCITA I MAKROFAGA.....	16
4.3.4. STANIČNI METABOLIZAM U SEPSI .....	16
4.4. MIKROBIOM .....	17
<b>5. DIJAGNOZA SEPSE</b> .....	18
5.1. KLINIČKA SLIKA .....	18
5.1.1 ŽIVČANI I NEUROENDOKRINI SUSTAV .....	18
5.1.2. KARDIOVASKULARNI SUSTAV .....	19
5.1.3. PLUĆA .....	20
5.1.4. BUBREG.....	21
5.1.5. GASTROINTESTINALNI SUSTAV.....	21
5.1.6. JETRA.....	22

5.1.7. KOŽA.....	22
5.2. DIJAGNOSTIČKE METODE .....	22
5.3. OCJENA TEŽINE STANJA.....	24
5.3.1. SOFA SCORE .....	24
5.3.2. APACHE .....	25
<b>6. MARKERI SEPSE .....</b>	<b>27</b>
<b>7. HEMATOLOŠKI MARKERI .....</b>	<b>30</b>
7.1. SEDIMENTACIJA ERITROCITA.....	30
7.2. LEUKOCITI.....	31
7.2.1. UKUPNI BROJ LEUKOCITA.....	32
7.2.2. SKRETANJE U LIJEVO .....	32
7.2.3. OMJER NEUTROFILA I LIMFOCITA (NLCR).....	33
7.3. LAKTATI.....	36
<b>8. REAKTANTI AKUTNE FAZE.....</b>	<b>38</b>
8.1. C-REAKTIVNA BJELANČEVINA (CRP).....	39
8.2. PROKALCITONIN (PCT) .....	42
8.3. PROTEIN KOJI VEŽE LIPOPOLISAHARID (LBP) .....	45
<b>9. CITOKINSKI MARKERI .....</b>	<b>48</b>
9.1. INTERLEUKIN 6 (IL-6) .....	49
9.2. INTERLEUKIN 1 (IL-1) .....	51
9.3. INTERLEUKIN 8 (IL-8, CXCL 8).....	53
9.4. ČIMBENIK TUMORSKE NEKROZE (TNF- $\alpha$ ).....	55
9.5. INTERLEUKIN 10 (IL-10).....	57
<b>10. OSTALI MARKERI .....</b>	<b>60</b>
10.1. PRESEPSIN (sCD 14-ST) .....	60
10.2. CD64 .....	62
10.3. sTREM-1.....	64
<b>11. BUDUĆNOST MARKERA SEPSE .....</b>	<b>66</b>
<b>12. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>67</b>
<b>ZAHVALE.....</b>	<b>68</b>
<b>LITERATURA.....</b>	<b>69</b>
<b>ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>77</b>

# **SAŽETAK**

## **MARKERI SEPSE**

**Autor: Filip Žigman**

Sepsa je životno ugrožavajuća disfunkcija organa uzrokovana neprimjerenim odgovorom domaćinovog organizma na infekciju koja godišnje odnosi između 5 i 11 milijuna života. Usprkos velikom napretku u razumijevanju patofizioloških procesa koji dovode do razvoja ovoga teškog stanja, malo toga se promijenilo u procesu postavljanja dijagnoze i liječenja septičnih bolesnika. Naime, najboljom terapijom se i dalje smatra ona koja se započne pravovremeno odnosno što brže nakon pojave sumnje na sepsu. Pri tome, vrlo je važna uloga potencijalnih markera sepse koje definiramo kao bilo koju tvar, strukturu ili proces koji se može izmjeriti u tijelu ili njegovim proizvodima te utjecati ili predvidjeti incidenciju ishoda ili bolesti. Veliki napori ulažu se zadnjih desetljeća u traženje ubikvitarne, pouzdane, brze i jeftine metode koja će dovoljno rano opravdati sumnju liječnika na sepsu i omogućiti brzu intervenciju. Od tih metoda se očekuje da mogu potvrditi ili isključiti sepsu, procijeniti težinu stanja i ishod bolesti te pomoći u primjeni terapije, ponajprije one antibiotske. Zasad je identificirano preko 170 potencijalnih markera, ali samo neki od njih su se uspjeli pokazati korisnima u kliničkoj praksi.

Uvodnih pet poglavlja prikazuje dosadašnje spoznaje i pruža kontekst o težini i veličini globalnog problema kojeg nazivamo sepsom. U drugome dijelu ovoga rada diskutira se o upotrebi markera koji se već nalaze u svakodnevnoj kliničkoj primjeni, kao i onih koji se koriste u specifičnim situacijama poput novorođenačke sepse ili procjeni razvoja imunosupresivne faze septičnog odgovora te markera čija se zasada obećavajuća dijagnostička i prognostička moć tek još mora u potpunosti dokazati.

**KLJUČNE RIJEČI:** Sepsa, markeri sepse, hematološki markeri, reaktanti akutne faze, citokinski markeri



# **SUMMARY**

## **MARKERS OF SEPSIS**

**Author: Filip Žigman**

Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by an inappropriate response by the host organism to an infection that causes 5 to 11 million deaths per year. Despite great advances in understanding the pathophysiological processes that lead to the development of this difficult condition, little has changed in the process of diagnosing and treating septic patients. Namely, the best therapy is still considered to be the one that is started on time or as soon as possible after the appearance of suspected sepsis. In doing so, the role of potential markers of sepsis is very important, which we define as any substance, structure or process that can be measured in the body or its products and influence or predict the incidence of outcome or disease. Great efforts have been made in recent decades to find a ubiquitous, reliable, fast and cheap method that will justify doctors' suspicion of sepsis early enough and enable rapid intervention. These methods are expected to be able to confirm or rule out sepsis, assess the severity of the condition and the outcome of the disease, and assist in the application of therapy, primarily antibiotics. So far, over 170 potential markers have been identified, but only some of them have been shown to be useful in clinical practice.

The introductory five chapters present the findings to date and provide a context on the severity and magnitude of the global problem we call sepsis. The second part of this paper discusses the use of markers already in everyday clinical use, as well as those used in specific situations such as neonatal sepsis or assessing the development of the immunosuppressive phase of the septic response, and markers whose promising diagnostic and prognostic power still must be fully proven.

**KEY WORDS:** Sepsis, markers of sepsis, hematological markers, acute phase reactants, cytokine markers

## **1. UVOD**

Sepsa je životno ugrožavajuća disfunkcija organa uzrokovana neprimjerenim odgovorom domaćinovog organizma na infekciju te predstavlja veliki globalni problem, odnoseći od 5 do 11 milijuna života godišnje, ali i ostavljajući teške posljedice u 19 do 48 milijuna ljudi koji ju prežive na godišnjoj razini.(1–3) Pri tome, shvaćanje sepse se mijenjalo kroz desetljeća, dijelom zbog nerazumijevanja patofizioloških poremećaja koji ju čine, a dijelom zbog kompleksne heterogenosti simptoma i kliničkih znakova koja nastaje kao posljedica varijacija u genetskom profilu i okolišnim čimbenicima, dobi, spolu, rasi te patogenetskim svojstvima infektivnih uzročnika.(4) Ipak, neki segmenti su ostali nepromijenjeni. Rana identifikacija, rana reakcija i rana terapija ostali su kamen temeljac liječenja sepse kroz protekla desetljeća, a to će i ostati u desetljećima koja tek dolaze. Iz tog razloga, bitno je postojanje adekvatnih alata koji će uz kliničko predznanje omogućiti stvaranje najboljih preduvjeta za bolesnike sa sepsom poboljšavajući kratkoročne i dugoročne ishode te smanjujući globalno, ali i lokalno opterećenje poput antibiotske rezistencije te potrošnje limitiranih zdravstvenih resursa. Jedno od rješenja moglo bi se pronaći u pronalasku pravoga markera sepse koji će omogućiti brzu, jednostavnu i jeftinu opciju u postavljanju dijagnoze te pomoći u procjeni težine stanja septičnih bolesnika vodeći u bolju primjenu kurativne i suportivne terapije.(5)

S obzirom na to da je za pouzdanu primjenu markera sepse potrebno duboko razumijevanje septičnog stanja, u ovome radu obradit će se najvažniji aspekti sepse, počevši od najnovije definicije sepse iz 2016. godine, epidemiologija koja će pomoći u shvaćanju sepsom uzrokovanog globalnog opterećenja, zatim najnovija saznanja o patobiološkim poremećajima i posljedična klinička prezentacija i uobičajne dijagnostičke metode koje se koriste u dokazivanju sepse. Drugi dio rada usredotočuje se na funkciju trenutačno korištenih, ali i potencijalnih markera sepse, njihovu osnovnu podjelu, primjenu i karakteristike u kliničkom okruženju te raspravlja o njihovim prednostima i nedostacima.

## **2. SEPSIS-3 DEFINICIJE**

Sepsa je enigmatičan klinički pojam u kojem osoba reagira na infekciju i može razviti disfunkciju bilo kojeg organa te se može različito prezentirati u svakog pojedinca i rezultirati smrtnim ishodom. Prvi spomeni sepse bilježeni su još od Hipokrata (460.-370.pr.Kr.) koji je smatrao da se u tijelu za vrijeme infekcije istovremeno odvijaju procesi sepse, koja je povezana s truljenjem i neugodnim mirisom, te pepse koja je povezana s bezmirisnom fermentacijom. (5) S obzirom na to da Hipokratova definicija ne zadovoljava zahtjeve današnje zdravstvene zajednice, počela je potraga za definicijom koja će najbolje opisati nove spoznaje o patobiologiji sepse te pomoći u usmjeravanju fokusa terapije i smanjiti globalni teret koji ona predstavlja. Iako se tijekom 2000 godina postupno shvaćalo da su uzrok sepse infektivni mikroorganizmi i reakcija ljudskog organizma na njih, prvi pravi i revolucionarni koraci u definiranju sepse započeli su 1991. od strane North American Consensus Committee (NACC). NACC je 1992. godine objavio dokument u kojem sepsu definiraju kao sindrom sustavnog upalnog odgovora (SIRS, prema eng. *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) uzrokovan infekcijom. (6) SIRS je pri tome bio definiran kao prisutnost barem dva od četiri kriterija: tjelesna temperatura viša od 38 °C ili niža od 36 °C, puls brži od 90 otkucaja u minuti, tahipneja veća od 20/min ili hiperventilacija s PaCO<sub>2</sub> manjim od 32 mmHg i broj leukocita veći od 12, 000 stanica/mm<sup>3</sup> ili manji od 4, 000 stanica/mm<sup>3</sup>. (7) Ipak, kriteriji SIRS-a smatrali su se preopćenitima i preslabo definiranim, stoga 2003. North American-European Taskforce pokušava redefinirati sepsu, no zbog pomanjkanja novih dokaza o patofiziološkim zbivanjima u sepsi, zadržava definiciju SIRS-a uzrokovanog infekcijom, ali proširuje definiciju SIRS-a i u nju po prvi puta uključuje akutnu organsku disfunkciju. (5) Iako veliki dio patofizioloških procesa ostaje i danas nerazjašnjen, u zadnjih dvadesetak godina počela se shvaćati uloga ne samo proinflatornih, već i antiinflatronih mehanizama kao i neimunskih modifikacija koje imaju utjecaj na organsku disfunkciju. (1) Stoga se 2016. godine razvila zadnja iteracija definicije sepse, *Sepsis-3*, koja uzima nova saznanja o patofiziološkim procesima u obzir i napušta koncept sepse kao SIRS-a uzrokovanog infekcijom. (1)

## 2.1. DEFINICIJA SEPSE

Prema *Sepsis-3*, sepsu definiramo kao životno ugrožavajuću organsku disfunkciju uzrokovanu disreguliranim odgovorom domaćina na infekciju. Pri tome, organska disfunkcija definirana je kao akutna promjena u ukupnom SOFA bodovanju veća ili jednaka od 2 boda posljedično infekciji. Novom definicijom u fokus je stavljen nehomeostatski odgovor domaćina na infekciju i naglašeno da je šteta nanosena organizmu veća od one koje bi uzrokovala sama infekcija, a samim time i povećana smrtnost što je i odraženo SOFA bodovanjem većim od 2 koje predstavlja opći rizik smrti od oko 10 %.(1) Naime, problematika stare definicije je bila u nedovoljno specifičnim kriterijima SIRS-a, poput povišene temperature ili neutrofilije, koji su mogli predstavljati primjereni odgovor domaćina na infekciju te činjenicom da veliki broj pacijenata koji imaju SIRS ne zahtijevaju antibiotsku terapiju ni hospitalizaciju.(5) Osim toga, nova definicija proglašava termin „teška sepsa“ suvišnim i izbacuje ga iz uporabe, tvrdeći da sepsa bez organske disfunkcije ne postoji.(1)

## 2.2. DEFINICIJA SEPTIČKOG ŠOKA

Septički šok definiramo kao hipotenziju pri kojoj je potrebna upotreba vazopresora kako bi se srednji arterijski tlak (MAP, prema eng. *Mean arterial pressure*) održao iznad 65 mmHg i kao povišenje serumskog laktata veće od 2 mmol/L usprkos primjerenoj nadoknadi tekućine.(1) Prijašnja definicija akutnog zatajenja cirkulacije povezanog s infekcijom smatrala se nedostatnom te nova definicija daje veći značaj novopronađenim patofiziološkim procesima koji djeluju u sepsi. Postavljanjem konkretnijih kriterija, moguće je definirati septički šok preciznije te samim time postaviti tvrdnju da je septički šok stanje praćeno većim mortalitetom od same sepse.(8) Usprkos novoj definiciji i konsenzusu da hiperlaktatemija korelira s težinom bolesti i dobar je pokazatelj stanične disfunkcije, termini „potrebe za vazopresorima“ te „primjerene nadoknade tekućine“ i dalje ostaju nerazjašnjeni zbog velikih varijacija u načinima monitoringa volemije kao i ciljnih vrijednosti koje se nastoje postići prilikom hemodinamske stabilizacije pojedinog pacijenta.(1)

### **3. EPIDEMIOLOGIJA SEPSE**

#### **3.1. INCIDENCIJA I MORTALITET SEPSE**

Točna incidencija i mortalitet sepse ostaju do danas nepoznati, a problem djelomično leži u izostanku sepse kao zasebne kategorije u svjetskoj epidemiološkoj studiji Global Burden of Disease.(5) Ipak, aproksimacija incidencije i mortaliteta je moguća, započevši od činjenice da je najčešći izvor sepse u razvijenom svijetu infekcija donjih dišnih puteva koja se nalazi na drugom mjestu po godinama zdravog života izgubljenima zbog onesposobljenosti (DALY, prema eng. *Disability adjusted life-years*), a na četvrtom mjestu po mortalitetu.(9) Istraživanje u 7 razvijenih zemalja ukazalo je na prosječnu incidenciju hospitalizacije zbog sepse od 270 na 100 000 stanovnika-godina sa prosječnim hospitalnim mortalitetom od 26 %. Najveća mana te studije je što ne postoje podatci koji obuhvaćaju incidenciju sepse u nerazvijenim zemljama u kojima živi 87 % svjetske populacije, ali se ekstrapolacijom dobivenih rezultata dobio podatak da u svijetu godišnje ima oko 19.4 milijuna slučajeva sepse te oko 5.3 milijuna ljudi umire od njenih komplikacija.(10) Situacija je vjerojatno i gora jer navedeni izračun pretpostavlja da je incidencija sepse u nerazvijenim zemljama jednaka onoj u razvijenom svijetu. Jedno istraživanje procjenjuje da godišnji broj slučajeva sepse u svijetu premašuje 48 milijuna, a broj smrti 11 milijuna. Ista studija navodi dijarealne bolesti kao vodeći uzrok septičnih stanja, a respiratorne infekcije kao skupinu infekcija s najvećom smrtnošću u septičnih pacijenata.(3)

Statistike pokazuju da incidencija sepse ima bimodalnu distribuciju te postiže najveće vrijednosti u ekstremnim dobnim skupinama. Najniže stope prisutne su u djece i mlađih odraslih s incidencijom manjom od 5 slučajeva na 1000 stanovnika, u novorođenčadi su stope umjerene s 5 na 1000 stanovnika, a eksponencijalno rastu od 50. do 80. godine života te su najviše u osoba starijih od 80 godina gdje postižu vrijednosti od 15 na 1000 stanovnika. Osim porasta incidencije, starenjem raste i mortalitet povezan sa sepsom te dostiže vrijednost od 35 % u osoba starijih od 85 godina.(2) Kronična stanja i komorbiditeti vjerojatno su najveći faktor ove statistike, posebice karcinom, kronično bubrežno zatajenje te imunosenescencija (postupno slabljenje imuniteta sa starošću).(5) Osim kroničnih stanja i komorbiditeta,

demografski i socioekonomski status isto imaju utjecaj na incidenciju te je ona veća u muškaraca, crnaca i osoba nižeg socioekonomskog statusa.(5)

Incidencija sepse kontinuirano raste zadnjih desetljeća, ali je isto tako popraćena i smanjivanjem mortaliteta što i pokazuje studija provedena u SAD-u koja je zamijetila porast u hospitalizacijama zbog sepse s 12.8 slučajeva na 1000 hospitalizacija na 18.6 slučajeva na 1000 hospitalizacija, a pri tome se mortalitet spustio s 55 % na 51 % .(5) (11) Razlog porasta vjerojatno je multifaktorijalne prirode, djelomično povezan s boljom terapijom raka koja rezultira većim stopama preživljenja kao i rastućom upotrebom imunosupresivne terapije i invazivnih medicinskih zahvata čime je porastao broj osoba s većim rizikom razvoja sepse.(5) Isto tako, primijećene su i sezonske razlike u incidenciji i mortalitetu te su obje vrijednosti veće tijekom zimskih mjeseci zbog povećane incidencije infekcija donjeg dišnog sustava, ponajprije pneumonija. (12)

### 3.2. ETIOLOGIJA SEPSE

Najviše slučajeva sepse u razvijenim zemljama svijeta uzrokovano je infekcijama koje su stečene u zajednici, oko 63 %, dok su infekcije vezane uz zdravstvenu skrb uzrok u 26 %, a infekcije stečene tijekom hospitalizacije u 11 % slučajeva.(13) Iako i dalje postoji debata na globalnoj razini o vodećoj infekciji koja je izvor sepse, u razvijenom svijetu su to respiratorne infekcije, praćene abdominalnim i genitourinarnim infekcijama, zatim primarnom bakterijemijom te infekcijama kože i mekih tkiva.(3) (2) Navedene infekcije pojavljuju se u 85 % svih slučajeva sepse.(2) Patogeni mikroorganizmi identificiraju se u 60-65 % slučajeva, a najčešći među njima su gram-negativne bakterije koje se pojavljuju u 35-45 %, zatim gram-pozitivne bakterije u 30-40 %, gljivični uzročnici u 12-16 % te virusi u 1 % slučajeva. Polimikrobne infekcije pojavljuju se u 18 % svih septičnih slučajeva.(14) Najčešći gram-negativni uzročnici su *E. coli*, *Klebsiella spp.* te *Pseudomonas spp.*, od gram-pozitivnih *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* i *Streptococcus pneumoniae*, a od gljivičnih uzročnika *Candida albicans*.(14) Najviši mortalitet vezan je uz gram-negativne uzročnike, posebice *Pseudomonas spp.* što je vjerojatno posljedica nekoliko okolnosti. Za početak, *Pseudomonas spp.* nije naročito patogen mikroorganizam, ali ima tendenciju uzrokovanja infekcije u imunokompromitiranih

pacijenata što popraćeno njegovom otpornošću na brojne antibiotike rezultira visokom smrtnošću pacijenata.(1)(12)(13)

### 3.3. DUGOROČNI ISHODI

U zadnjem desetljeću sve više pažnje počelo se pridavati dugoročnim ishodima sepse. Iako hospitalni mortalitet stabilno opada u zadnja dva desetljeća, razvila se veća svijest o kasnom mortalitetu sepse i njenim komplikacijama kao i fizičkim, kognitivnim i mentalnim posljedicama koja ona ostavlja za sobom.(5) Naime, od pacijenata koji prežive prvih 30 dana od razvoja sepse, 40 % umire u sljedeće dvije godine. Ova crna statistika ne može biti u potpunosti objašnjena dobi bolesnika, njihovim socioekonomskim statusom ili zdravstvenim stanjem prije oboljenja.(16) Parcijalno razjašnjenje, moglo bi proizaći iz opservacije animalnih modela u kojima je nakon septičnih stanja uočen rapidni razvoj ateroskleroze i povećana incidencija tumora kao i njihov brži rast.(16) S druge strane, razvoj imunosupresije u kasnijim stadijima sepse kao i promjene mikrobioma i staničnog metabolizma pogoduju razvoju infekcije koja u tom slučaju napada vrlo vulnerabilne pojedince manjkavog kapaciteta imunosne obrane i vodi prema smrtnom ishodu.(17)

Osobe koje prežive sepsu imaju povećani rizik razvoja fizičkih i kognitivnih poremećaja što značajno utječe na kvalitetu života bolesnika te uzrokuje opterećenje njihove okoline kao i zdravstvenog sustava.(18) Funkcionalne limitacije očituju se kao nemogućnost samostalnog hodanja, odijevanja, hranjenja i održavanja osobne higijene, ali i kao zadataka poput upravljanja financijama, spremanja vlastitih obroka ili uzimanja propisane farmakološke terapije.(18) Općenito, nakon septičnog inzulta, starije osobe u prosjeku razviju jednu do dvije nove funkcionalne limitacije.(5) Među ostalim, period nakon životno ugrožavajuće bolesti karakteriziran je i pojavom psihičkih smetnji i poremećaja, što govori i podatak da čak 30 % pacijenata ima simptome depresije, anksioznosti i PTSP-a u sljedećih 12 mjeseci nakon boravka u JIL-u. Pri tome, nisu zamijećene razlike u pojavi simptoma ovisno o dobi i spolu te se obrazloženje pronalazi u neuro-inflamatornim procesima koji zahvaćaju oba spola podjednako, iako određene studije smatraju da je predisponirana dobna skupina ona od 40. do 59. godine života.(19)

## **4. PATOGENEZA SEPSE**

Zadnja izmjena definicije sepse, *Sepsis-3*, definirala je sepsu kao životno ugrožavajuću organsku disfunkciju uzrokovanu disreguliranim odgovorom domaćina na infekciju.(1) Time se ukazalo na nove spoznaje u patofiziološkim procesima koji se odvijaju u sepsi i uključuju osebujan i nekontroliran upalni odgovor domaćina na infektivni patogen, ali i nastup imunosupresije kao i promjena u staničnom metabolizmu te poremećaj mikrobioma. Navedeni procesi onemogućavaju domaćinu povratak u homeostazu i rezultiraju visokom smrtnošću.(20) Inicijalna hiperinflamatorna reakcija organizma uglavnom je odgovorna za akutnu organsku disfunkciju, zatajenje te smrt u ranijim stadijima bolesti, dok je kasniji imunosupresivni stadij, ukoliko ga osoba doživi, odgovoran za razvoj sekundarnih infekcija kojem osobe nerijetko podlegnu.(20) Poznavanje patobioloških mehanizama tijekom sepse ključno je za razumijevanje potencijalnih markera sepse te njihovu pravovremenu i ispravnu primjenu.

### **4.1. DOMAĆINOVO PREPOZNAVANJE PATOGENA**

Aktivacija imunskog sustava od strane infektivnog mikroorganizma odvija se u nekoliko koraka. Nakon prianjanja patogena na kožu ili mukozu domaćina, on mora prijeći epitelnu barijeru i nastaniti se u podložnom tkivu gdje će imunski sustav potencirati njegovo prepoznavanje i posljedičnu upalnu reakciju.(21) Molekule mikroorganizama koje potiču upalnu reakciju nazivamo PAMPs (prema eng. *pathogen associated molecular patterns*) (Tablica 1.) koje se vežu na PRRs (prema eng. *pattern recognition receptors*)(Tablica 2.), specijalizirane receptore koji prenose signal unutarstaničnim kaskadnim putevima i uzrokuju nuklearnu translokaciju NF- $\kappa$ B. Primjerice, najpoznatiji PAMP je lipopolisaharid, poznatiji i kao endotoksin, koji čini 70 % stanične stijenke gram-negativnih bakterija i svojim kontaktom s TLR 4 receptorom imunskih stanica uzrokuje aktivaciju intracelularnih kaskada (MyD88, TIRAP, TRIF i TRAM) i posljedično translokaciju NF- $\kappa$ B u jezgru. Time se povećava ekspresija gena koji kodiraju za proinflamatorne citokine te njihovim otpuštanjem inicira aktivaciju prirodene imunosti, leukocita, sustava komplementa i prokoagulantnih mehanizama koji zajedničkim djelovanjem dovode do nekroze stanica. Prilikom nekroze dolazi do



otpuštanja endogenih molekula iz oštećenih stanica, zvanih DAMPs ili alarmini (prema eng. *damage associated molecular patterns*) koje aktiviraju PRR te pokreću iste reakcije kao PAMPs time zatvarajući začarani krug upalnog odgovora.(5)

Dosada su definirane 4 obitelji PRR-a : TLRs (prema eng. *Toll-like receptors*), CLRs (prema eng. *C-type lectin receptors*), RLRs (prema eng. *RIG-1-like receptors*) i NLRs (prema eng. *NOD-like receptors*). TLRs su najpoznatija skupina PRR-a i pronalaze se ekstracelularno i intracelularno kao i u endosomima i lizosomima, a aktivira ih široki spektar liganda koji potječu od bakterija, gljiva, parazita, virusa kao i samog domaćina.(5,22) Pri tome, ligandi su PAMPs, od kojih su najpoznatiji LPS, lipoteikoična kiselina, lipopeptidi, flagelini i bakterijska DNA.(5)

	Species	TLR
<b>PAMPs in bacteria</b>		
Lipopolysaccharide	Gram-negative bacteria	TLR4
Lipoteichoic acid	Gram-positive bacteria	TLR2*
Peptidoglycan	Most bacteria	TLR2
Triacyl lipopeptides	Most bacteria	TLR1 or TLR2
Diacyl lipopeptides	<i>Mycoplasma</i> spp	TLR2 or TLR6
Porins	<i>Neisseria</i>	TLR2
Flagellin	Flagellated bacteria	TLR5
CpG DNA	All bacteria	TLR9
Unknown	Uropathogenic bacteria	TLR11†
<b>PAMPs in fungi</b>		
Zyosan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TLR2 or TLR6
Phospholipomannan	<i>Candida albicans</i>	TLR2
Mannan	<i>Candida albicans</i>	TLR4
O-linked mannosyl residues	<i>Candida albicans</i>	TLR4
β-glucans	<i>Candida albicans</i>	TLR2‡
<b>DAMPs§</b>		
Heat shock proteins	Host	TLR4
Fibrinogen, fibronectin	Host	TLR4
Hyaluronan	Host	TLR4
Biglycans	Host	TLR4
HMGB1	Host	TLR4, TLR2

Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and danger-associated molecular patterns (DAMPs) with likely relevance for sepsis (PAMPs expressed by viruses and parasites are not shown). \*For detection of lipoteichoic acid from some pathogens, TLR6 functions as a co-receptor for TLR2. †Not functional in human beings. ‡In collaboration with dectin 1. §Recent studies describe a role for TLRs in acute injury by use of rodent models of haemorrhagic shock, ischaemia and reperfusion, tissue trauma and wound repair, and various toxic exposures; these studies have implicated TLR4 as a major factor in the initial injury response.<sup>11</sup> Endogenous mediators are identified as TLR4 ligands. HMGB1=high-mobility group box 1 protein.

**Table 1: Pathogen-associated and danger-associated molecular patterns and their recognition by Toll-like receptors (TLRs)**

Tablica 1- Popis PAMPs i DAMPs te TLR koje aktiviraju. Prema: van der Poll and Opal, *Host-pathogen interactions in sepsis. The Lancet Infectious Diseases*,(2008.)

Pattern recognition receptor	Ligand	Origin of ligand
<i>Toll-like receptors (TLRs)</i>		
TLR1	Triacyl lipoprotein (forms heterodimer with TLR2), soluble factors	Bacteria
TLR2	Lipoprotein (forms heterodimer with TLR1 and TLR6)	Bacteria, viruses, fungi, self
TLR3	Double-stranded RNA	Viruses
TLR4	Lipopolysaccharide, envelop proteins (syncytial viruses), glycoinositol phospholipids, HSPs 60 and 70, S100a8 (ligand from dying cells)	Bacteria, viruses, self
TLR5	Flagellin	Bacteria
TLR6	Diacyl lipoprotein (forms heterodimer with TLR2)	Bacteria, viruses
TLR7	Single-stranded RNA, synthetic compounds (e.g., imidazoquinolines)	Bacteria, viruses, self
TLR8	Single-stranded RNA, small purine analog compounds (imidazoquinolines)	Viruses
TLR9	CpG-DNA, insoluble crystal hemozoin ( <i>Plasmodium falciparum</i> )	Bacteria, viruses, parasites, self
TLR10	Unknown	
<i>NOD-like receptors (NLRs)</i>		
NOD1	Peptidoglycan (iE-DAP)	Bacteria
NOD2	Peptidoglycan (MDP)	Bacteria
<i>C-type lectins (CLRs)</i>		
Dectin-1	$\beta$ -Glucan	Fungi
Dectin-2	$\beta$ -Glucan	Fungi
MINCLE	SAP130	Fungi, self
<i>Retinoic acid-inducible gene (RIG)-I-like receptors (RLRs)</i>		
RIG-I	Short double-stranded RNA, 5' triphosphate dsRNA	Viruses
MDA5	Long double-stranded RNA	Viruses
LGP2	Double-stranded RNA	Viruses
DDX3	Viral RNA	Viruses

Tablica 2- Popis PRR. Prema: Wiersinga and Seymour, *Handbook of sepsis* (2018.), str 34. i 35.

## 4.2 HIPERINFLAMATORNI ODGOVOR

Vežanjem odgovarajućih liganda za PRR, započinje inflamatorni odgovor koji u većini slučajeva uspijeva obraniti organizam od patogenog mikroorganizma. Ipak, nekada patogen prevlada i odgovor organizma postane disreguliran i štetan. Pri tome, odgovor se očituje kao dva paralelna, ali ujedno i oponirana mehanizma, a to su hiperinflamacija i imunosupresija.(5)

Nakon vezanja PAMP i DAMP na PRR i prenošenjem signala do jezgre, započinje povećana produkcija proinflamatornih citokina poput TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 i IL-18

koji kontroliraju odgovor domaćina na lokalnoj i sistemske razini, a otpuštaju se ponajprije iz neutrofila i monocita te svojim djelovanjem na TREM-1 (prema eng. *triggering receptor expressed on myeloid-1*) dodatno aktiviraju o TLR i NLR ovisne puteve. Aktivacija TREM-1 jedan je od primjera pozitivne povratne sprege kojima se povećava proizvodnja brojnih proinflammatoryh posrednika. Slično tome, proupalni citokini (IL-1, TNF- $\alpha$ ) su ujedno i proizvodi i aktivatori vlastitog transkripcijskog sustava (NF- $\kappa$ B), a i aktiviraju posredno ili neposredno kaskadne sustave poput sustava komplementa ili sustava koagulacije. Na svakom sljedećem stupnju, broj molekula proizvoda reakcije se povećava za nekoliko potencija. Time upalni procesi gube svoju biološku svrhovitost i postaju dominantno štetni što nazivamo sindromom sustavnog upalnog odgovora (SIRS). (23)

#### 4.2.1. SUSTAV KOMPLEMENTA

Proinflammatory citokini usko su povezani sa sustavom komplementa koji se sastoji od oko 40 komponenata i služi dopunjavanju i unaprjeđenju funkcije imunskog sustava. Njegove glavne funkcije očituju se u označavanju patogena svojim vezanjem čime olakšava fagocitozu ili stvaranjem MAC kompleksa (prema eng. *membrane attack complex*) koji uzrokuje lizu stanice, ali i sudjeluje u *up*-regulaciji tkivnog faktora.(20) Anafilatoksini C3a i C5a sudjeluju u poticanju upalnog procesa te uzrokuju vazodilataciju, povećanje propusnosti kapilara i kontrakciju glatkih mišića.(24) Među ostalim, oni okružuju patogen i kada postignu granične koncentracije regrutiraju druge imunosne stanice poput makrofaga, bazofila, neutrofila, eozinofila i mastocita te dovode do aktivacije trombocita, endotelnih i epitelnih stanica. Uz navedenu funkciju, učinak C5a povezan je i sa štetnim događajima u sepsi poput egzarcerbacije sustavne upale, kardiomiopatije, DIK-a i komplikacija povezanih s multiorganskim zatajenjem, ali i imunosupresivnim mehanizmima poput neutrofilne disfunkcije i limfocitne apoptoze.(5,20)

#### 4.2.2. KOAGULACIJSKI SUSTAV I VASKULARNI ENDOTEL

Sepsa je konzistentno povezana s koagulacijskim abnormalnostima krećući od delikatnih promjena u koagulaciji koje se mogu detektirati jedino visokosenzitivnim

testovima, preko nešto ozbiljnije aktivacije koagulacijskog sustava koja se očituje padom broja trombocita i produljenjem koagulacijskih testova pa sve do najozbiljnije komplikacije – DIK-a koji se očituje istovremenim stvaranjem ugrušaka u malim i srednje velikim krvnim žilama uz pojavu multiorganskog zatajenja (MOF) i istovremenim krvarenjem na više mjesta.(5) Klinički značajne promjene u hemostazi pojavljuju se u 70% septičnih pacijenata, a čak 35% se može okarakterizirati kao neki stupanj DIK-a.(25) Općenito, mehanizam se može opisati kao *up*-regulacija prokoagulantnih, *down*-regulacija antikoagulantnih mehanizama i narušavanje fibrinolitičkog sustava.(5)

U zdravih pojedinaca, antikoagulantni mehanizam je kontroliran trima putevima: antitrombinskim sustavom, TFPI (prema eng. *tissue factor pathway inhibitor*) i sustavom proteina C.(26)

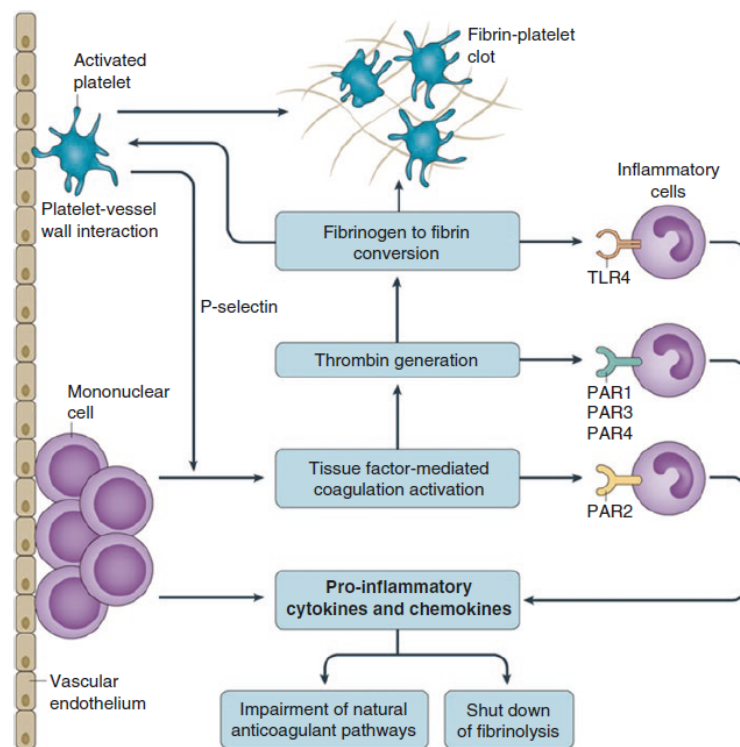
U hiperinflamatornom odgovoru, endotelne stanice bivaju aktivirane pod utjecajem proinflamatornih citokina i bakterijskih produkata te počinju izražavati tkivni faktor (TF) na svojoj površini što pokreće koagulantnu kaskadu rezultirajući produkcijom trombina i fibrina. Glavni inhibitor pokretanja kaskade je TFPI koji je u homeostatskim uvjetima vezan s endotelom preko proteoglikana, ali u sepsi se sinteza i prisutnost glikozaminoglikana na površini endotela smanjuje, a samim time smanjuje se i prisutnost TFPI.(26) Oštećeni endotel stvara manje količine aktiviranog proteina C koji je zadužen za proteolitičku razgradnju faktora Va i VIIa. Veća količina tih faktora rezultira povećanom količinom trombina. Smanjenom prisutnošću glikozaminoglikana na površini endotela narušuje se i djelovanje antitrombina koji u normalnim uvjetima inhibira djelovanje trombina. Tijekom sepse, smanjena je sinteza antitrombina, povećana degradacija neutrofilnim elastazama i povećana potrošnja zbog interakcije s povećanim količinama trombina.(26)

Usprkos inicijalnoj aktivaciji fibrinolitičkog sustava za razgradnju ugrušaka (aktivator plazminogena- tkivni tPA-1, urokinazni uPA-1) čija se skladišta ponajprije pronalaze u vaskularnom endotelu, u kasnijim fazama zbog djelovanja i porasta razina inhibitora aktivatora plazminogena (PAI-1) dolazi do smanjenja fibrinolize.(25)

Oštećenjem endotela povećava se adhezija stanica za njega. U fiziološkim uvjetima, oštećeni endotel otpušta von Willebrandov faktor koji polimerizira na ozlijeđenom

mjestu te time čini primarni korak u protektivnoj koagulaciji, a proteolitički enzim ADAMTS13 sprječava nastajanje prekomjerne koagulacije. U sepsi postoji relativni manjak ADAMTS13 pri čemu dolazi do polimerizacije von Willerbrandova faktora uzrokujući prekomjernu adheziju trombocita i mikrovaskularne tromboze. Aktivacijom trombocita dolazi do stvaranja začaranog kruga oštećenja s obzirom da dovodi do dodatnog oštećenja endotela koji zauzvrat aktivira trombocite.(5)

Veliki broj septičnih pacijenata razvija trombocitopeniju ( $150 \times 10^9/L$ ) u prva četiri dana bolesti. Na smanjenje njihova broja utječu smanjena proizvodnja trombocita, povećana potrošnja, obliteracija te sekvestracija trombocita u slezeni. Trombopoetin, TNF- $\alpha$  i IL-6 stimuliraju megakariocite u koštanoj srži, ali je septično stanje ponajprije obilježeno oštećenom proizvodnjom megakariocita.(27) Osim toga, zamijećena je značajna fagocitoza prekursora trombocita i drugih krvnih stanica koja je vjerojatno stimulirana povećanim razinama M-CSF-a (prema eng. *macrophage colony-stimulating factor*). Aktivacija, potrošnja i destrukcija trombocita ponajprije se odvijaju na površini endotela kao posljedica povećane interakcije između trombocita i endotela.(25)



Slika 1- Interakcija upalnog odgovora i koagulacije. Prema: Wiersinga and Seymour, *Handbook of sepsis* (2018.), str 47.

### 4.2.3. KRVOTOK U SEPSI

Sepsa rezultira mnogim metaboličkim i hemodinamskim poremećajima čija je krajnja posljedica septički šok koji klasificiramo kao vazohipotonički šok.(23) U njegovom razvoju sudjeluju bakterije ili druge zarazne klice i njihovi toksini te različite biološki aktivne tvari, a svi navedeni mogu dovesti do oštećenja endotelnih stanica kapilara. Takav poremećaj najčešće uzrokuje infekcija gram-negativnim bakterijama koje sadrže endotoksin, lipopolisaharidni dio stanične stijenke koji vezivanjem na membrane makrofaga dovodi do njihove aktivacije što rezultira obilnim lučenjem TNF- $\alpha$ , IL-6 i dušikovog monoksida.(23) Osim toga, LPS aktivira Hagemanov faktor koji pokreće sustav kalikreina i kinina što dovodi do stvaranja bradikinina, a tijekom sepse se izlučuju i endorfini i enkefalini kojima je primarna uloga smanjenje boli. Navedeni mehanizmi u ranim stadijima upale djeluju vazodilatacijski i povećavaju kapilarnu permeabilnost, a imaju ulogu povećanja tkivne perfuzije te dostave hranjivih tvari, upalnih medijatora i imunskih stanica u zahvaćeno područje. Vazodilatacija može biti i posljedica smanjene osjetljivosti adrenergičkih receptora na njihove ligande, nedostatne proizvodnje aldosterona, izostanka refleksa baroreceptora kao i rezultat hipoksije i djelovanja laktata na kalijске kanale ovisne o ATP-u.(21) Pretjerana aktivacija ovih mehanizama u hiperinflamatornom odgovoru uzrokuje vazoplegiju praćenu nemogućnošću održavanja arterio-venske razlike tlakova te miokardijalnu depresiju.(5,23) Depresija miokarda posredovana je citokinima, poremećenom homeostazom kalcija, dušikovim monoksidom, mitohondrijskom disfunkcijom i apoptozom miocita koji dovode do smanjenja kontraktilnosti lijevog i desnog ventrikula te dijastoličke disfunkcije.(21) Ovo stanje je reverzibilne prirode te rezolucija poremećaja prati rezoluciju sepse, no isto tako u najtežim slučajevima može dovesti do razvoja kardiogenog šoka.(5)

Hipotenzija rezultira smanjenom tkivnom perfuzijom te posljedičnom staničnom hipoksijskom hipoenergozom i prebacivanjem staničnog metabolizma iz aerobnog u anaerobni koji ne može namaknuti dostatne količine energije za funkciju stanica.(23) Nedostatak energije očituje se oštećenjem stanica te staničnom smrću. Posljedica anaerobnog metabolizma je i povećano stvaranje laktata zbog nemogućnosti ulaska piruvata u Krebsov ciklus. (23)

### 4.3. IMUNOSUPRESIJA

Donedavno, liječenje sepse bilo je orijentirano prema inicijalnom hiperinflamatornom odgovoru posredovanom proinflamatornim citokinima. Poboľšanjem rane dijagnostike te terapijskih protokola, porastao je broj pacijenata koji naizgled ulaze u drugi stadij septičnog odgovora.(11) Ovaj stadij obilježen je smanjenim imunosnim odgovorom organizma u kojem pacijenti umiru posljedično nemogućnosti kontrole izvorne infekcije ili zbog pojave nove, sekundarne infekcije, nerijetko oportunističkim patogenima stečenima u bolnici ili JIL-u.(17) Bolje razumijevanje imunosupresivnih procesa moglo bi rezultirati novim mogućnostima u terapiji septičnih pacijenata, ponajprije u vidu imunoterapije orijentirane prema osnaživanju obrambenog odgovora organizma u kasnijim stadijima sepse. Dosada istraženi procesi imunosupresivnog odgovora su apoptoza imunosnih stanica, limfocitno iscrpljenje te reprogramiranje monocita i makrofaga.(17)

#### 4.3.1. APOPTOZA IMUNOSNIH STANICA

Septična stanja praćena su masovnom apoptozom imunosnih stanica, posebice CD4+ i CD8+ limfocita T te limfocita B i dendritičnih stanica, koja se uglavnom odvija u limfoidnim organima poput slezene, timusa, limfnih ćvorova te s mukozom povezanog limfnog tkiva (MALT). Obzirom da su regulatorni limfociti T (Treg) značajno otporniji na sepsom induciranu apoptozu vjerojatno zbog povećane ekspresije antiapoptotičke molekule BCL-2, njihova povećana aktivnost rezultira višim razinama IFN- $\gamma$  i smanjenom proliferacijom i deplecijom CD4+ i CD8+ limfocita T.(17) Preostali CD4+ i CD8+ limfociti T prebacuju se iz proinflamatornog Th1 fenotipa u imunosupresivni Th2 fenotip.(5) Nadalje, povećana ekspresija PD1 na CD4+ T-limfocitima te povećana ekspresija PDL1 na makrofagima i endotelnim stanicama te posljedična interakcija PD1-PDL1 naštećuje funkciji T-limfocita, ponajprije vodeći u njihovu apoptozu.(20) Suprotno limfocitima, apoptoza neutrofila u sepsi je odgođena u odnosu na njihov normalni životni vijek koji u prosjeku iznosi 24 sata nakon otpuštanja iz koštane srži. Štoviše, količina neutrofila i njihovih prekursora u perifernoj krvi je povećana. Doduše, u septičnom stanju je narušena funkcija neutrofila u vidu

produkcije slobodnih kisikovih radikala i klirensa bakterija kao i kemotaktična sposobnost.(17)

#### 4.3.2. LIMFOCITNO ISCRPLJENJE

Visoke razine proinflammatoryh i antiinflammatoryh citokina u podmakloj sepsi stvaraju idealno okruženje za iscrpljenje limfocita T. Smanjena funkcija limfocita prvi puta je opisana u miševa s kroničnim virusnim infekcijama, a naknadno u osoba s bakterijskim i parazitskim infekcijama kao i u HIV-bolesnika i osoba oboljelih od malignih bolesti. Zasad su opisana tri mehanizma koji sudjeluju u limfocitnom iscrpljenju. Prvi mehanizam je drastično smanjena sposobnost limfocita T da luče IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$ .(17) TNF- $\alpha$  je vrlo potentni dugodometni proinflammatory citokin koji je jedan od temeljnih interleukina u obrani organizma od patogena kao i u septičnoj reakciji, a njegova funkcija će biti detaljnije opisana u zasebnom poglavlju. S druge strane, IFN- $\gamma$  je citokin adaptivne imunosti kojeg luče limfociti T te aktivirani makrofagi i NK-stanice, a te stanice ujedno i stimulira pozitivnom povratnom spregom. Sudjeluje u poticanju diferencijacije T<sub>H0</sub> u T<sub>H1</sub> stanice i pojačava izražaj MHC-I i MHC-II molekula, inhibira stvaranje T<sub>H2</sub> stanica i humoralnu imunost te ima snažno antiproliferacijsko djelovanje.(24) Dakle, nedostatnim lučenjem ovih citokina ne uspijeva se razviti adekvatan upalni odgovor.

Drugi mehanizam karakteriziran je povećanom ekspresijom PD1 na CD4+ limfocitima T te PDL1 na makrofagima, ali i povećanom ekspresijom PDL1 na kapilarnom endotelu te epitelnim stanicama bronhiola. Trenutak kada ovaj receptor i njegov ligand dođu u kontakt, započinje programirana smrt stanice koja je izrazila PD1 na svojoj membrani, u ovom slučaju CD4+ limfocita T čime vodi u njihovu apoptozu.(17) Treći mehanizam je smanjena ekspresija CD127 na površini limfocita T, receptora IL-7, koji potiče njihovu proliferaciju i ekspresiju antiapoptotičke molekule BCL-2 na membrani limfocita.(17)



#### 4.3.3. REPROGRAMIRANJE MONOCITA I MAKROFAGA

Glavno obilježje reprogramiranja monocita i makrofaga u septičnih pacijenata je njihov smanjeni kapacitet za sintezu i lučenje proinflammatoryh citokina usprkos rastućim količinama LPS-a i drugih bakterijskih produkata koji djeluju kao TLR agonisti.(17) Ova pojava se u literaturi naziva razvojem endotoksinske tolerancije.(5,28) Nasuprot toga, sinteza i produkcija IL-10 i antagonista IL-1 receptora ostaje očuvana ili biva povišena, što je naznaka da LPS i dalje može stimulirati monocite i makrofage, ali se stanični odgovor okreće prema produkciji antiinflammatoryh citokina. Između ostalog, monociti i makrofagi pokazuju smanjenu ekspresiju HLA-DR na svojim membranama.(17)

Iako se proces reprogramiranja ne razumije u potpunosti, smatra se da su temelj ovog događaja promjene u epigenetskoj regulaciji na nekoliko razina. Na pretranskripcijskoj razini dolazi do organizacije kromatina na transkripcijski aktivan eukromatin i transkripcijski inaktivan dio genoma, heterokromatin,. Temeljni proces je histonska modifikacija koja se može odvijati u vidu acetilacije, metilacije, ubikvitinacije i fosforilacije.(5) Na posttranskripcijskoj razini djeluje mikroRNA koja degradira specifične mRNA segmente, vjerojatno one koji kodiraju za proinflammatory medijatore.(20) Pretpostavka je da se epigenetske promjene zbivaju i na zrelim stanicama u perifernoj krvi kao i u prekursorima u koštanoj srži što pridonosi razvoju dugotrajne imunosupresije.(5)

#### 4.3.4. STANIČNI METABOLIZAM U SEPSI

Stanični metabolizam prepoznat je kao važan dio u regulaciji produkcije citokina tijekom sepse, a mehanizmi njegova djelovanja razlikuju se od onoga u homeostazi. Najznačajnija promjena je *klasični Warburgov efekt*, fenomen u kojem se u imunskim stanicama metabolizam mijenja iz predominantne oksidativne fosforilacije u aerobnu glikolizu, čime omogućava brži obrtaj ATP-a kao i intermedijarnih medijatora koji mogu sudjelovati u oksidativnim i reduktivnim reakcijama tijekom upalnog odgovora.(5,20) Okidač ovoga fenomena je stimulacija imunskih stanica LPS-om, dok stimulacija drugim agonistima PRR-a u pravilu ne izaziva ovu pojavu, već simultano povećava glikolizu i oksidativnu fosforilaciju.(5) *Warburgov efekt* rezultira i povišenim razinama

sukcinata koji posredno inducira sintezu proinflamatornih citokina.(20) Izostankom ove stimulacije posljedično razvoju endotoksinske rezistencije, nastupa daljnja imunosupresija koja je uz navedene poremećaje glikolize i oksidativne fosforilacije, dodatno praćena i abnormalnom oksidacijom slobodnih masnih kiselina.(5)

#### 4.4. MIKROBIOM

Mikrobiom se sastoji od nekoliko trilijuna ( $10^{18}$ ) bakterija, a većina njih se nalazi u gastrointestinalnom traktu. Septična stanja ponajprije su karakterizirana disbiozom, odnosno smanjenjem raznovrsnosti mikrobioma što uzrokuje promjenu u imunom odgovoru, primjerice u vidu promijenjenog kapaciteta proizvodnje proinflamatornih citokina. (5) Terapijski postupci poput primjene širokospektralnih antibiotika, parenteralne prehrane i primjene inhibitora protonske pumpe pridonose smanjenju raznovrsnosti mikrobioma te smanjuju broj komenzala poput *Faecalibacterium*, *Blautiae* ili *Ruminococcus* i uzrokuju prerastanje oportunističkom patogenom florom. Pojava prerastanja jednog koljena bakterija zamijećena je u trećine septičnih pacijenata u JIL-u, a predominantni mikroorganizmi su najčešće *Clostridium difficile*, *Staphylococcus spp.* , *Escherichia spp.* , *Shigella spp.* , *Salmonella spp.* i *Enterococcus spp.*(5) Oštećenje gastrointestinalne barijere često je praćeno translokacijom bakterija i njihovih toksina u krvotok dovodeći do razvoja endotoksičnog šoka.(5) Pri tome, pokazano je da upotreba probiotika dovodi do poboljšanja ovog poremećaja, ali je isto tako povezana s neočekivanim smrtnim ishodom.(20) Fekalna transplantacija pokazala se kao uspješna terapijska strategija pri prerastanju *Clostridium difficile*.(20)

## **5. DIJAGNOZA SEPSE**

### **5.1. KLINIČKA SLIKA**

Sepsu definiramo kao životno ugrožavajuću organsku disfunkciju uzrokovanu disreguliranim odgovorom domaćina na infekciju.(8) Temeljem same definicije možemo zaključiti da klinička prezentacija može biti vrlo varijabilna, počevši od izvora infekcije, njenog uzročnika, dobi i imunosnog statusa osobe te pridruženih komorbiditeta pa sve do uhranjenosti, imunosupresivne terapije, prethodnih operacija, ali i genetske predispozicije. Pri tome, sepsa je uvijek obilježena organskom disfunkcijom, ali ne nužno i znakovima infekcije. Nekontrolirana upalna reakcija može rezultirati značajnim kardiovaskularnim, autonomnim, endokrinološkim, metaboličkim i neurološkim posljedicama, što nerijetko završava smrću. Iz tog razloga, od velike je važnosti rano posumnjati, rano identificirati te rano primijeniti antimikrobnu i suportivnu terapiju. Stoga je osmišljen algoritam brze procjene potencijalno septičnih pacijenata qSOFA (prema eng. *quick Sequential Organ Failure Assessment*) kako bi se procijenila potreba za daljnjom dijagnostikom i ranom terapijom. qSOFA skalu čini tri kriterija: respiratorna frekvencija  $>22/\text{min}$ , promijenjeno stanje svijesti (GCS $<15$ ) i sistolički krvni tlak  $<100 \text{ mmHg}$ . U slučaju da su barem dva od tri kriterija pozitivna, postavlja se radna dijagnoza sepse i nakon uzimanja materijala za mikrobiološku i ostalu laboratorijsku dijagnostiku, odmah se započinje liječenje.

#### **5.1.1 ŽIVČANI I NEUROENDOKRINI SUSTAV**

Septična stanja mogu biti karakterizirana cerebralnom disfunkcijom, poremećajem osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda, adrenalnom insuficijencijom i autonomnom disfunkcijom.

Poremećaji cerebralne funkcije česta su pojava u septičnih pacijenata koji se najčešće očituju kao kvantitativni i/ili kvalitativni poremećaji stanja svijesti, u vidu encefalopatije, delirija ili kome, a objektivna procjena stanja svijesti vrši se putem GCS-a (prema eng. *Glasgow Coma Scale*).(29) Moguća je i pojava fokalnih znakova poput tremora, mioklonusa i lezija moždanih živaca sa senzornim ili motoričkim ispadima.(21)

Preživljavanje iznimno stresnih stanja uvjetovano je adekvatnom aktivacijom osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda, ali u teško bolesnih osoba je narušeno normalno pulsatilno lučenje hormona hipofize (hormon rasta, ACTH, prolaktin).(21) Glavno očitovanje zatajenja ove osi je nemogućnost održavanja normotenzije usprkos inicijalno visokim razinama vazopresina koje su praćene kasnijom deplecijom njegovih razina te posljedičnim razvoj septičkog šoka.(21) U nekim slučajevima, poremećaj se može nalaziti u samoj nadbubrežnoj žlijezdi što rezultira adrenalnom insuficijencijom. Mikroorganizmi poput *N. meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *citomegalovirusa* i *Histoplasma capsulatum* mogu uzrokovati primarnu adrenalnu insuficijenciju razaranjem žlijezde, induciranjem krvarenja i posljedičnom nekrozom.(21) Popratni simptomi rezultat su smanjenog odgovora na stres, nedostatka glukokortikoida, mineralokortikoida i androgena.(23) To su umor i slabost, gubitak apetita i posljedično tjelesne mase, mučnina, povraćanje, proljev ili konstipacija, hipoglikemija, hiponatremija, hiperkalemija, hiperkalcemija, hipovolemija, hipotenzija i šok kao i gubitak pazušne i pubične dlakavosti te smanjeni libido.(28)

Autonomna disfunkcija u septičnih pacijenata očituje se kao centralna i periferna. Centralna autonomna funkcija obuhvaća ponajprije vazomotorne i respiratorne centre u produljenoj moždini dok perifernu čini autonomna regulacija tonusa arteriola te respiratornih mišića. Njezinim oštećenjem gubi se sposobnost organizma da kontrolira srčani ritam, krvni tlak te respiratorne pokrete, dovodeći do zatajenja navedenih funkcija.(21)

### 5.1.2. KARDIOVASKULARNI SUSTAV

Patofiziološke promjene koje nastupaju u kardiovaskularnom sustavu detaljno su opisane u poglavljima 4.2.2. i 4.2.3.

Posljedično vrlo jakim i mnogobrojnim vazodilatacijskim mehanizmima tijekom upalnog odgovora, razvija se hipotenzija koja onemogućava dostatnu opskrbu tkiva krvlju. Hipotenziju definiramo kao sistolički tlak manji od 90 mmHg, odnosno kao smanjenje sistoličkoga tlaka za 40 mmHg u odnosu na početno stanje.(30) Kao reakcija na smanjenu arterio-vensku razliku tlakova, simpatički odgovor stimulira rad srca te uzrokuje tahikardiju, ali se može prezentirati i drugim poremećajima ritma, a u

poodmaklim stadijima sepse i depresijom miokarda te bradikardijom. Obzirom da je septički šok distributivni tip šoka te da je vazodilatacija jedan od glavnih mehanizama koji uzrokuje hipotenziju, periferni znakovi smanjenog tonusa krvnih žila očitovati će se kao topla i crvena koža, a u kasnijim stadijima zbog venske staze može se primijetiti i periferna cijanoza.(23) Kao jedan od pokazatelja nedostatne tkivne perfuzije, u perifernoj krvi se može zamijetiti laktatna acidoza, a vrijednosti laktata veće od 2 mmol/L upućuju na razvoj septičkog šoka, ali kako je objašnjeno u poglavlju 7.3. povećane razine mogu biti i rezultat mnogobrojnih drugih stresnih odgovora organizma.(30)

Među ostalim, potrebno je napomenuti da zbog nedostatne tkivne perfuzije može nastradati bilo koji organ stoga je gotovo nemoguće utvrditi točnu kliničku prezentaciju septičkog šoka.

Poremećaj koagulacije može se prezentirati kao široki spektar događaja koji nerijetko prate jedan drugoga. Jedna od prvih promjena je pojava trombocitopenije koju definiramo kao smanjeni broj trombocita u krvi, konkretno manje od  $150 \times 10^9/L$ , ali se spontana krvarenja počinju javljati tek kada njihov broj padne ispod  $20 \times 10^9/L$ .(5,31) Popratne pojave uključuju porast fibrinogena te njegovih raspadnih produkata poput D-dimera, smanjenje razina antitrombina III te produljenje APTV-a.(21) Najteži oblik koagulopatije je DIK koji dovodi do tromboze sitnožilja uzrokujući oštećenje ciljnih organa, a jedna od prvih zapaženih promjena je kutana nekroza okrajina.(21)

### 5.1.3. PLUĆA

Inicijalni odgovor respiratornog sustava u sepsi očituje se tahipnejom i često dispnejom. Hiperventilacija kao odgovor na razvijajuću acidozu uslijed nedostatne tkivne perfuzije može biti toliko jaka da se bolesnik inicijalno prezentira s respiratornom alkalozom.(23) Ipak, u terminalnim stadijima sepse, respiratorna funkcija se prezentira u vidu agonalnog disanja posljedično autonomnoj disfunkciji i zatajenju centralnih respiratornih centara kao i zamoru respiratornih mišića.(21)

Zbog hiperinflamatornog odgovora i posljedično neutrofilnoj sekvestraciji u alveole te povećanoj permeabilnosti kapilara s popratnim intersticijskim i alveolarnim edemom razvija se ARDS (prema eng. *Acute Respiratory Distress Syndrome*). Akutni

respiratorni distress sindrom klinički se definira kao hipoksemija u prisutnosti bilateralnih radioloških infiltrata, a njegova težina procjenjuje se po Berlinskim kriterijima.(30) Alveolarna eksudacija i stvaranje hijalinih membrana s posljedičnim gubitkom surfaktanta i alveolarnim kolapsom rezultira ventilacijsko-perfuzijskim poremećajem i posljedičnom hipoksemijom i hiperkapnijom.(31)

#### 5.1.4. BUBREG

Teška septična stanja redovno su popraćena azotemijom i oligurijom, a sama bubrežna ozljeda može varirati od minimalne proteinurije do akutnog bubrežnog zatajenja. Pri tome, smanjena diureza je najčešće posljedica hipotenzije te je kao takva obično reverzibilna uz dovoljne nadoknade tekućine. Uz hipotenziju, najčešći patogenetski mehanizmi akutne bubrežne ozljede su hipovolemija, renalna vazokonstrikcija i utjecaj toksičnih lijekova poput aminoglikozida.(21) Akutna bubrežna ozljeda češća je u dijabetičara te osoba koje u terapiji imaju NSAID kao i ACE inhibitore.(32) Osim što se najčešće prezentira s oligurijom i azotemijom, akutna bubrežna ozljeda nerijetko je popraćena i hiperkalemijom i acidozom, sniženim razinama natrija u urinu, povišenim omjerom ureje i kreatinina ukoliko se primarno radi o prerenalnom zatajenju, a ukoliko je u pitanju akutna tubularna nekroza osim hiperkalemije i acidoze, može se očekivati i povišenje kreatin kinaze te prisutnost >40 mmol/L natrijevih iona u urinu kao i cilindričnih odljeva.(32)

#### 5.1.5. GASTROINTESTINALNI SUSTAV

Gastrointestinalni sustav podjednako je zahvaćen hipoperfuzijom kao i drugi organi. Pri tome, postoji tendencija razvoja gastroduodenalnih stres ulkusa, a posljedično koagulopatijama, bolesniku prijeti mezenterijalna tromboza i ishemija.(21,29) Oštećenjem probavnog trakta i pod utjecajem ishemije kao i elektrolitskih poremećaja, bolesnici imaju povećani rizik retencije želučanog sadržaja kao i razvoja paralitičkog ileusa.(29)

Oštećenje probavnog trakta praćeno je i povećanom permeabilnošću crijevne sluznice, a uz pojavu prerastanja pojedinih oportunističkih rodova bakterija pod

utjecajem imunosupresije, antibiotske terapije, upotrebe lijekova koji smanjuju lučenje želučane kiseline i parenteralne terapije, septične osobe sklone su razvijanju endotoksičnog šoka.(5,21)

#### 5.1.6. JETRA

Septično stanje nerijetko je popraćeno porastom jetrenih enzima i bilirubina, a u velikog broja pacijenata vidljiva je i kolestatska žutica.(21) Posljedično razvoju septičkog šoka u jetri je moguća pojava ishemijsko-hipoksemijske ozljede. (29)

#### 5.1.7. KOŽA

Kutane manifestacije u osoba oboljelih od sepse mogu se pojaviti u mnogo oblika. Pri tome, one mogu biti locirane na mjestu inokulacije uzročnog mikroorganizma u kožu kad se obično prezentiraju kao pustule ili kraste. Drugi način prezentacije može biti u vidu hematogeno diseminiranog uzročnika kada se pojavljuju u obliku petehija, pustula, ektyme gangrenosum ili celulitisa. (21) Isto tako, kožne promjene mogu biti i posljedica tromboze malih i srednjih krvnih žila, a najčešće se očituju na krajnjoj periferiji, na šakama i stopalima.(21)

### 5.2. DIJAGNOSTIČKE METODE

Rana dijagnoza sepse važna je za rani početak liječenja pacijenta i ključna za postizanje dobrog ishoda.(33) Usprkos mnogobrojnim dosadašnjim pokušajima, zasada ni jedan laboratorijski test nije u mogućnosti postaviti definitivnu dijagnozu sepse.(21) Iz tog razloga, njihova upotreba mora biti popraćena dobrom sposobnošću kliničara da prepozna znakove sustavnog upalnog odgovora kao i kliničku sliku septičnog pacijenta i zatajenja organa. Brza procjena qSOFA kriterijima navedena je u poglavlju 5.1., a SIRS definiramo kao prisutnost dva ili više od sljedećih kliničkih znakova: temperatura viša od 38°C ili niža od 36°C, tahikardija >90/min, tahipneja >22/min ili PaCO<sub>2</sub><32mmHg te leukocitoza >12,000/mm<sup>3</sup> odnosno leukopenija <4,000/mm<sup>3</sup>.(21) Daljnja obrada je često široka te mora biti orijentirana prema

suspektnom izvoru infekcije, procijeni i praćenju vitalnih funkcija te procjeni težine organskog oštećenja. S obzirom na životno ugrožavajuću prirodu sepse, ovakve je pacijente potrebno zaprimiti u JIL.

Hemokultura je dijagnostička metoda zlatnog standarda koja ponajprije služi identificiranju uzročnog mikroorganizma.(21) Pri tome, za postizanje njene najveće moguće osjetljivosti i specifičnosti potrebno je ispravno uzeti uzorke. Pažljiva priprema mjesta venepunkcije od ključnog je značaja za izbjegavanje lažno pozitivnih kultura te bi ono trebalo biti oprano s klorheksidinom ili alkoholom i biti pušteno da se osuši. Isto tako, uzorke treba uzeti prije administracije antibiotske terapije.(34) Pojava koagulaza-negativnih stafilokoka u kulturi najčešće upućuje na njenu kontaminaciju te bi u tom slučaju trebala biti ponovljena, ali njihova pojava u drugoj kulturi trebala bi pobuditi sumnju na infektivni endokarditis ili infekciju proteze.(31) Uzimanje uzorka krvi trebalo bi biti obavljeno s dva ili tri različita mjesta te uzeto u dva seta, aerobnom i anaerobnom.(21) Važno je za napomenuti da bi i pozitivne hemokulture morale biti pažljivo promotrene u vidu kliničke slike bolesnika.(34) Novija metoda PCR-a nudi brže postavljanje dijagnoze amplifikacijom bakterijske DNA, ali je isto tako podložna okolišnoj kontaminaciji i ne razlikuje dobro između kolonizacije i infekcije.(34) Od ostalih uzoraka za identificiranje bakterijskog uzročnika trebalo bi spomenuti urin, sputum te briseve gnojnih iscjedaka i rana. Uzorak urina obično se dobiva iz urinarnog katetera te se iz njega dobiva urinokultura koja se smatra značajnom ukoliko se u njoj nađe više od  $10^8$  bakterija, a među ostalim uzorak može poslužiti i za antigensko testiranje u slučaju *Pneumococcus spp* i *L. pneumophile*.(34) Uzorci sputuma odnosno bronhijalni uzorci značajni su u slučaju postojanja pneumonije, a mogu biti pribavljeni pomoću sukcijskog katetera, kateterske četkice ili bronhoskopijom, a najpouzdaniji su ukoliko su uzeti iz dubokih dijelova respiratornog stabla.(34)

Odluka o ostalim pretragama navođena je kliničkim slikom, a obuhvaća kompletnu i diferencijalnu krvnu sliku, laktate, amilaze i lipaze, arterijski acidobazni status, biokemijski panel, koagulogram, elektroforezu serumskih bjelančevina, urin biokemijski, biokemijski i citološki pregled te kulturu ili PCR likvora i druge.(29) Od slikovne dijagnostike često korištene metode su ultrazvuk srca, abdomena i urotrakta, EKG, CT i MR.(21)



Trenutno, najčešće korišteni markeri u kliničkoj praksi su SE, CRP i PCT,(29) a njihove prednosti i mane kao i sposobnosti u dijagnosticiranju i praćenju pacijenata detaljno su opisane u daljnjem radu.

### 5.3. OCJENA TEŽINE STANJA

Procjena težine stanja u septičnih pacijenata jedan je od bitnih aspekata njihovog inicijalnog zbrinjavanja te zbrinjavanja u JIL-u. Naime, zdravstveni resursi su ograničeni i potrebno je adekvatno analizirati kojim pacijentima je potrebno zbrinjavanje na višim razinama skrbi, ali isto tako i ocijeniti one koji su van neposredne životne opasnosti te koji više ne zahtijevaju kontinuirani nadzor vitalnih znakova što im može ponuditi samo jedinica intenzivnog liječenja. Pri tome, koriste se dva sustava kriterija kako bi se dostatno procijenilo koje je pacijente potrebno zaprimiti ili moguće otpustiti iz JIL-a na običan odjel, a koje je bolje zadržati.(30) Za napomenuti je da se markeri sepse mogu koristiti i u ovu svrhu.

#### 5.3.1. SOFA SCORE

SOFA score (prema eng. *Sepsis-related Organ Failure Assessment*) osmišljen je 1996. od strane radne grupe u sklopu Europskog društva za intenzivnu medicinu, a primarna uloga bila mu je omogućiti objektivno kvantificiranje organske disfunkcije odnosno organskog zatajenja.(35) Kako bi se to postiglo, procjenjuje se funkcija 6 organskih sustava (respiratornog, kardiovaskularnog, jetrenog, bubrežnog, koagulacijskog i neurološkog), pri čemu se svaki ocjenjuje od 1 do 4 i veća vrijednost označuje veće oštećenje. Minimalna vrijednost je 6 bodova, a maksimalna 24.(35) Velika prednost ovog sustava kriterija je u tome što ga čine klinički podatci i laboratorijska mjerenja koja su rutinski dostupna na hitnim prijemima i u JIL-ovima.(36) Studije su pokazale umjerenu do dobru točnost u predviđanju smrtnosti ovisno o visini SOFA score-a u pacijenata zaprimljenih putem hitnog prijema. Isto tako, promjena u vrijednostima tijekom 72 sata hospitalizacije dobro korelira s hospitalnim mortalitetom.(36)

**Table 3** The SOFA score

SOFA score	1	2	3	4
<i>Respiration</i>				
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> , mmHg	<400	<300	<200 with respiratory support	<100
<i>Coagulation</i>				
Platelets × 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	<150	<100	<50	<20
<i>Liver</i>				
Bilirubin, mg/dl (μmol/l)	1.2–1.9 (20–32)	2.0–5.9 (33–101)	6.0–11.9 (102–204)	>12.0 (>204)
<i>Cardiovascular</i>				
Hypotension	MAP < 70 mmHg	Dopamine ≤5 or dobutamine (any dose) <sup>a</sup>	Dopamine >5 or epinephrine ≤0.1 or norepinephrine ≤0.1	Dopamine >15 or epinephrine >0.1 or norepinephrine >0.1
<i>Central nervous system</i>				
Glasgow Coma Score	13–14	10–12	6–9	<6
<i>Renal</i>				
Creatinine, mg/dl (μmol/l) or urine output	1.2–1.9 (110–170)	2.0–3.4 (171–299)	3.5–4.9 (300–440) or <500 ml/day	>5.0 (>440) or <200 ml/day

<sup>a</sup> Adrenergic agents administered for at least 1 h (doses given are in μg/kg·min)

Tablica 3- SOFA score. Prema: Vincent i suradnici (1996.)

### 5.3.2. APACHE

APACHE kriteriji (prema eng. *Acute Physiology Assessment and Chronic Health Evaluation*) razvijani su od 70-ih godina prošloga stoljeća, a do danas su prošli 4 iteracije. On služi procjeni karakteristika pacijentova stanja prilikom admisije te se sastoji od rutinskih mjerenja koja se obavljaju u prva 24 sata od zaprimanja pacijenta.(30) Pri tome, današnja verzija APACHE IV, sastoji se od 17 kriterija koji procjenjuju opće pacijentove karakteristike poput dobi i preboljelih teških bolesti te uključuje procjenu vitalnih parametara (tjelesna temperatura, puls, respiratorna frekvencija i srednji arterijski tlak) kao i laboratorijske nalaze natremije, kalemije, serumskog kreatinina, hematokrita, ukupnog broja leukocita, GCS-a, FiO<sub>2</sub> i postojanje bubrežnog zatajenja.(37) Maksimalni zbroj bodova je 71, a veći broj bodova predstavlja teže stanje i povezano je s većim mortalitetom.(30)

History of severe organ failure or Immunocompromise Heart Failure Class IV, cirrhosis, chronic lung disease, or dialysis-dependent	No	Yes
Age	<input type="text"/>	years
Temperature	Norm: 37.8 - 39.1	C
Mean arterial pressure	Norm: 70 - 100	mm Hg
pH	Norm: 7.38 - 7.44	
Heart rate/pulse	Norm: 60 - 100	beats/min
Respiratory rate	Norm: 12 - 20	breaths/min
Sodium	Norm: 136 - 145	mmol/L
Potassium	Norm: 3.5 - 5	mmol/L
Creatinine	Norm: 62 - 115	μmol/L
Acute renal failure Note: "acute renal failure" was not defined in the original study. Use clinical judgment to determine whether patient has acute kidney injury.	No	Yes
Hematocrit	Norm: 36 - 51	%
White blood cell count	Norm: 3.7 - 10.7	× 10 <sup>9</sup> cells/L
<a href="#">Glasgow Coma Scale</a>	Norm: 3 - 15	points
FIO <sub>2</sub>	<input type="text" value="&lt;50% (or non-intubated)"/> <input type="text" value="≥50%"/>	

Tablica 4-APACHE score. Preuzeto s interneta:<https://www.mdcalc.com/apache-ii-score#use-cases> datum: 2.6.2021.

## 6. MARKERI SEPSE

Desetljećima se intenzivno tražilo neku specifičnu intervenciju za liječenje sepse, ali usprkos ogromnim naporima, tretiranje se i danas sastoji ponajprije od adekvatne nadoknade cirkulirajućeg volumena te potpore pojedinim organskim sustavima u kombinaciji s eradikacijom uzročnika infekcije, a do danas i dalje najvažniji korak predstavlja pravovremena reakcija. Preduvjet za ranu reakciju je rana identifikacija sepse koja može biti izuzetno teška s obzirom da je klinička slika katkada u početku nejasna te vrlo varijabilna između pojedinih pacijenata, a podaci o mikrobiološkom uzročniku su često nedostupni, ponekad zbog vremena potrebnog da se mikroorganizam razmnoži u hemokulturi, djelomično zbog negativnih kultura s napomenom da pacijenti nerijetko primaju antimikrobnu terapiju prije nego što razviju sepsu.(5) Važnost rane identifikacije septičnih stanja pokazuje i podatak da se pri započinjanju neadekvatne antibiotske terapije peterostruko smanjuje stopa preživljenja.(38) Isto tako, jedna studija pokazala je da pri odgodi antibiotske terapije u septičkom šoku smrtnost raste za 7.6 % po satu u prvih 6 sati. (33)(Slika 2) Dodatne poteškoće u identifikaciji uzročnika pronalaze se i u novorođenčadi, politraumatiziranih pacijenata i pacijenata s pankreatitisom te se iz tog razloga, rješenje nastoji pronaći u identifikacija tzv. markera sepse.(5,39) U ovome radu termini marker i biomarker koriste se kao istoznačnice.

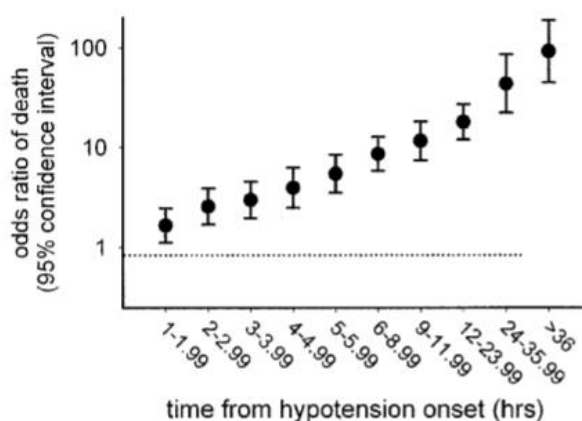


Figure 2. Mortality risk (expressed as adjusted odds ratio of death) with increasing delays in initiation of effective antimicrobial therapy. Bars represent 95% confidence interval. An increased risk of death is already present by the second hour after hypotension onset (compared with the first hour after hypotension). The risk of death continues to climb, though, to >36 hrs after hypotension onset.

Slika 2-Porast mortaliteta ovisno o trajanju hipotenzije. Prema: Kumar i suradnici (2006.)

Markeri imaju različite definicije, ali se brojne od njih preklapaju. *National Institute of Health Biomarkers Definitions Working Group* 1998. je definirao markere kao karakteristike koje se objektivno mjere i ocjenjuju kao pokazatelji normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakološkog odgovora na terapijsku intervenciju. *The International Programme on Chemical Safety* vođen od strane Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) u suradnji s Ujedinjenim Narodima (UN) i *International Labor Organization* definirao je markere kao bilo koju tvar, strukturu ili proces koji se može izmjeriti u tijelu ili njegovim proizvodima te utjecati ili predvidjeti incidenciju ishoda ili bolesti. Pri tome, da bi neki biomarker smatrali adekvatnim on mora zadovoljiti određene uvjete. Biomarker mora biti u mogućnosti objektivno kvantificirati te mjeriti s preciznošću, reproducibilnošću i točnošću. Nadalje, on mora snažno korelirati s kliničkim ishodom za koji je surogat te se mora moći koristiti u različitim populacijama i tijekom različitih terapijskih postupaka.(40)

Obzirom da se klinička slika septičnih pacijenata ponajprije prezentira kao zatajenja pojedinih organskih sustava, ne postoji specifični dijagnostički test koji ju može identificirati, ali se odgovor domaćina na infekciju često može kvantificirati. Stoga prepoznavamo tri bitne uloge potencijalnih markera sepse. Prva je identifikacija odnosno isključivanje sepse pri čemu treba napomenuti da su markeri često bolji u isključivanju nego u potvrđivanju prisutnosti poremećaja. Isključivanje septičnih stanja moguće je ukoliko su markeri dovoljno osjetljivi, a problem u potvrđivanju pojavljuje se jer ne postoji ni jedan marker koji je u potpunosti specifičan već ga redovno induciraju druge nokse poput traume, opekline ili neke druge vrste stresa. Iz tog razloga se pri potvrđivanju ili isključivanju sepse navodimo "SnNOut" pravilom (prema eng. *high sensitivity, if negative, rules out the diagnosis*). Druga uloga očituje se u procjeni težine bolesti te određivanju prognoze vodeći se logikom da veća koncentracija markera predstavlja teže stanje odnosno lošiju prognozu, što je svoju ulogu pronašlo ponajprije u trijaži potencijalno septičnih pacijenata te određivanju koji od njih zahtijeva i kojem je opravdano pružiti intenzivnu skrb uzimajući u obzir limitiranost resursa zdravstvenog sustava. Treća uloga predstavlja procjenu odgovora na primijenjenu terapiju što se obično postiže evaluacijom trendova određenih markera ili njihovih kombinacija s općenitim pravilom da pad trenda obično predstavlja povoljan, a povišenje trenda nepovoljan odgovor na terapiju. Pri tome, dodatna mogućnost ove aplikacije markera je u potencijalnom smanjenju negativnih ishoda s obzirom da kliničaru opravdava

agresivniji pristup u daljnjoj dijagnostici i terapiji, opravdava primjenu ograničenih resursa, ali i eventualni prestanak određenih vrsta liječenja zbog nepotrebnih štetnih posljedica poput razvoja nuspojava antibiotika ili razvoja antibiotske rezistencije. Potencijalno smanjenje troškova liječenja, kraće trajanje hospitalizacije ili boravka u JIL-u, isto tako su nezanemarivi faktori.(5)

Iako će u ovome radu ponajprije biti obrađeni laboratorijski markeri važno je naglasiti da nijedan laboratorijski marker ne može sasvim sigurno predvidjeti infekciju bez detaljnih i kvalitetnih kliničkih biometrijskih markera, odnosno precizno uzete anamneze te detaljno obavljenog kliničkog pregleda.(41) Pri tome, prije detaljnije razrade upotrebe i svrhe laboratorijskih markera sepse, potrebno je razjasniti neke česte mitove od činjenica.

Početno, započinjanje laboratorijske dijagnostike prije adekvatne kliničke procjene u većini slučajeva nije opravdano jer slijepo mjerenje laboratorijskih markera bez uzimanja u obzir kliničke prezentacije ne može sa sigurnošću utvrditi etiologiju, a potom ni terapijski postupak. Isto tako, tvrdnja da je povišenje markera istoznačno infekciji je neutemeljena i ponekad pogrešna jer su markeri po svojoj prirodi često nespecifični indikatori upalnog odgovora organizma koji može biti izazvan mnogobrojnim noksama, a samo jedna od njih je infekcija. Nadalje, konstatacija koja se često simplificira je da značajno povišenje klasičnih markera poput CRP-a ili PCT-a predstavlja tešku bakterijsku infekciju, nije sasvim istinita, s obzirom na to da i virusne infekcije u pojedinim slučajevima mogu uzrokovati drastično povišenje navedenih markera. Isto tako, neophodno je za istaknuti da su se neki markeri ustalili u kliničkoj praksi kao ubikvitarni testovi koji se mjere gotovo svakom pacijentu bez obzira na dob, spol, rasu, komorbiditete i druge faktore koji drastično utječu na njihove razine, a samim time i njihov potencijal u dijagnostici, procjeni težine stanja i prognoze te navođenju terapije. Ukoliko želimo iskoristiti potpuni potencijal određenog markera, moramo uzeti u obzir njegove biokemijske osobine kao i prirodu patofizioloških procesa u kojima sudjeluju te tek onda razmatrati što njihove vrijednosti predstavljaju.(42)

Dosada je identificirano preko 170 potencijalnih markera.(5)

## **7. HEMATOLOŠKI MARKERI**

### **7.1. SEDIMENTACIJA ERITROCITA**

Brzina sedimentacije eritrocita (SE) nespecifičan je test u kojem se koristi krv u kojoj je spriječena koagulacija pomoću EDTA ili citrata, a mjeri se duljina puta koji su eritrociti prošli pod utjecajem gravitacije pri razdvajanju od plazme. Izražava se u mjernoj jedinici milimetri u prvom satu (mm/h) iako novije metode mogu dobiti rezultat unutar nekoliko minuta.(43) Eritrocitna agregacija ključni je aspekt brzine sedimentacije jer se stvoreni agregati eritrocita (*rouleaux* tvorbe) mnogo brže razdvajaju od plazme u odnosu na samostalne eritrocite, a njihovo stvaranje ponajprije je uvjetovano povećanjem agregatornih sila i svladavanjem odbojnih sila koje potječu od negativnih naboja na susjednim eritrocitima.(23) Brzina SE može mijenjati u mnogobrojnim stanjima koja uzrokuju poremećaje u agregatornim silama između eritrocita pa se primjerice ubrzanje sedimentacije pronalazi u stanjima u kojima su povišene razine fibrinogena poput infekcije, upale, zloćudnih tumora, šećerne bolesti te srčanih i bubrežnih bolesti, a SE raste i s dobi, nešto je viša u žena, trudnica te u stanjima smanjenog hematokrita, poglavito anemiji. S druge strane, usporenju sedimentacije pridonose stanja poput policitemije, hipoproteinemije, afibirnogenemije i promjene oblika eritrocita u vidu sferocitoze, anizocitoze i eliptocitoze.(44)

Normalne razine SE razlikuju se u muškaraca i žena te se izračunavaju ovisno o dobi. U muškaraca općenito je pravilo da se broj godina života podijeli s 2, a u žena se dodaje deset na broj godina života i potom dijeli s dva. Brzina SE raste unutar 24 do 48 sati od pojave upalnog zbivanja te se postupno usporava tijekom tjedana u kojem nastupa rezolucija inflamacije. Općenito je pravilo da bi brzina SE veća od 100 mm/h trebala potaknuti potragu za uzrokom njenog povišenja.(45) Ipak, treba napomenuti da ubrzanje SE prilikom infektivnih stanja često nije niti dovoljno brzo niti dovoljno visoko da bi mogli sa sigurnošću tvrditi da je uzrok SIRS-a infektivna etiologija. Pri tome, jedno istraživanje usporedilo je dijagnostičke mogućnosti SE s PCT-om, CRP-om te ukupnim brojem leukocita, gdje je SE pri *cut-off*-u od 48 mm/h imao osjetljivost od 56.2 % i specifičnost od 55.3 % te dao značajno lošije rezultate od ostalih markera s kojima se uspoređivao. Isto istraživanje ukazalo je i na manjkavost brzine SE kao prediktora mortaliteta, odnosno, nije postojala statistički značajna razlika u brzini SE

u osoba koje jesu i osoba koje nisu preživjele sepsu.(46) Slične rezultate dobila je i studija koja je ispitala mogućnost SE, PCT-a, CRP-a i ukupnog broja leukocita u razlikovanju inficiranih od neinficiranih pacijenata s opeklinama.(47)

Ukratko, usprkos tome što je brzina sedimentacije eritrocita jedan od najstarijih dijagnostičkih testova u procjeni upalnog odgovora, njegova upotreba u svrhu dijagnoze sepse, procjene težine stanja i prognoze bolesti kao i navođenju terapije izuzetno je ograničena te su se zadnjih desetljeća u kliničkoj praksi pojavili značajno bolji markeri koji osjetljivije, specifičnije i ranije ukažu kliničaru na mogućnost postojanja sepse.

## 7.2. LEUKOCITI

Leukociti ili bijele krvne stanice začetnici su i nosioci imunosti koje nastaju iz pluripotentnih krvotvornih matičnih stanica u koštanoj srži dvama diferencijacijskim putevima; mijelopoetskim putem kojim se stvaraju fagociti, dendritične stanice i predočne stanice te limfopoetskim putem kojim se stvaraju sve vrste limfocita. Fagocite (grč. *phagein*-jesti, žderati) čine neutrofilni i eozinofilni granulociti te monociti odnosno makrofagi, a zajedno s nekim podvrstama limfocita (NK i NK-T stanica, limfocita T- $\gamma\delta$  i limfociti B1) čine nositelje nespecifične imunosti.(24) Uloga fagocita očituje se u ostvarivanju prvog kontakta s mikroorganizmima ili stranim tvarima koje dopijaju u organizam pri čemu mehanizmima endocitoze, pinocitoze i fagocitoze te posljedičnom enzimskom razgradnjom upijenih tvari štite organizam od uljeza te potiču i preusmjeravaju imunosti odgovor prema adaptivnoj imunosti.(24) Predočne stanice izlažu antigen na svojoj membrani i time omogućuju limfocitima T njegovo prepoznavanje, a mogu ih predočiti u obliku prerađenih antigena limfocitima T ili kao native antigene koje predočuju aktiviranim limfocitima B u čvorićima sekundarnih limfnih tkiva. Tri glavne skupine predočnih stanica čine dendritičke stanice, makrofagi te limfociti B.(24) Stanice limfocitnog reda možemo razdijeliti na mnogo načina, no s obzirom da uloga ovog rada nije detaljno objašnjavanje fiziologije i funkcije upalnih stanica, nabrojat ćemo ih po najjednostavnijoj, citomorfološkoj podjeli. Većinu limfocita u krvi i torakalnom duktusu čine mali limfociti (promjer u nativnom stanju u krvi oko 5  $\mu\text{m}$ ), a taj izgled imaju svi nepodraženi limfociti T i B te memorijski limfociti. Preostale limfocite čine srednje veliki i veliki limfociti, a u ovu skupinu spadaju i posebni veliki



granulirani limfociti (LGL, prema eng. *Large granular lymphocytes*) od kojih su najznačajnije NK-stanice. U krvi možemo pronaći još i plazma-stanice, krajnje diferencirane oblike limfocita B te limfoblaste što je morfološki naziv za sve limfocite koji prolaze kroz ciklus diobe.(24)

### 7.2.1. UKUPNI BROJ LEUKOCITA

Ukupni broj leukocita ubikvitaran je test, jeftin i dostupan praktički svugdje te se već desetljećima smatra integralnim dijelom dijagnostike sepse. Abnormalnosti bijelih krvnih stanica uključene su u inicijalnu definiciju SIRS-a iz 1992. godine koja nalaže da ukoliko postoji sindrom sustavnog upalnog odgovora mora postojati leukocitoza ( $\geq 11 \times 10^9/L$ ) odnosno leukopenija ( $\leq 4 \times 10^9/L$ ) ili u njihovoj odsutnosti, skretanje u lijevo veće od 10%.(5) Usprkos širokoj rasprostranjenosti ovoga testa u kliničkoj praksi, njegova korisnost osporavana je već duže vrijeme te se navedene vrijednosti smatraju najmanje važnima u dijagnostici sepse u odnosu na ostale parametre koji se dobivaju s kompletnom i diferencijalnom krvnom slikom.(48) Problematika ukupnog broja leukocita kao markera sepse proizlazi iz činjenice da se septični pacijenti mogu prezentirati s leukocitozom ili leukopenijom, a određeni dio pacijenata zapast će u „sivu zonu“ normalnih razina leukocita.(48) Drugim riječima, abnormalni leukociti mogu ukazivati na infekciju, ali normalne razine je ne isključuju. Osim toga, povišene razine leukocita mogu biti rezultat steroidne terapije kao i stresnog odgovora organizma na različite nokse. S druge strane snižene i normalne razine mogu biti posljedica imunosupresivne terapije kao i produljene leukopenije. Nesigurne situacije u kojima klinička slika odgovara prezentaciji sepse, ali je ukupni broj leukocita u razinama normale, zahtijevaju detalju analizu diferencijalne krvne slike i parametara poput skretanja u lijevo, postotka nezrelih granulocita, broja trombocita, omjera neutrofila i limfocita kao i analiza u ovisnosti o drugim markerima poput CRP-a i PCT-a.(48)

### 7.2.2. SKRETANJE U LIJEVO

Skretanje u lijevo izraz je za pojavu nezrelih vrsta leukocita u perifernoj krvi posljedično infekciji i stimulaciji visokim razinama proupalnih citokina poput G-CSF-a. Povišenjem citokinskih razina sve više nezrelih leukocita biva stimulirano i mobilizirano

u periferni krvotok pa se u nalazima periferne krvi mogu zamijetiti morfološki nezreli neutrofili koje se u stručnoj literaturi naziva *band*-ovima, a samo stanje *bandemijom*.(48) Nedostatci ove metode očituju se u nekoliko aspekata. Za početak, indukcija skretanja u lijevo značajno je odgođena u odnosu na početak infekcije te je u prosjeku vidljiva tek nakon 24 sata. Nadalje, problem se pojavljuje i u samom načinu dijagnosticiranja postojanja *band*-ova u perifernoj krvi s obzirom da se uzorci krvi moraju manualno promatrati pod mikroskopom umjesto analizirati automatiziranim strojevima što ostavlja prostora ljudskoj grešci, a postoji i nesklad u samoj definiciji *band*-ova koja se često razlikuje između laboratorija i promatrača.(48) Osim navedenih poteškoća, uzrok *bandemiji* mogu biti i druga stanja poput nedavnih kirurških zahvata, krvarenja, tkivne nekroze, mijeloproliferativnih poremećaja i egzogene primjene G-CSF-a. Ipak, zbog niske osjetljivosti pretrage, ali i njene visoke specifičnosti, pojava *bandemije* trebala bi kliničara asociirati na vjerojatno postojanje sepse ukoliko klinička prezentacija podržava taj zaključak. Iz navedenih razloga, mjerenje skretanja u lijevo donekle je zamijenjeno mjerenjem količine nezrelih granulocita u perifernoj krvi koji se nalaze u stadijima promijelocita, metamijelocita i mijelocita.(48) S obzirom da se oni mjere pomoću suvremenih hematoloških analizatora, uklonjeni su određeni nedostatci poput ljudskog faktora, vremena proteklog do dospijevanja rezultata pretrage i opetovane reproducibilnosti samih rezultata. Trenutno iskustvo s ovom metodom je relativno oskudno, ali se pretpostavlja da će se sa sve širom primjenom ove metode kao i razvijanjem određenog povjerenja od strane kliničara prema njoj, steći dovoljno razumijevanja za korištenje ove metode. Sadašnje shvaćanje ove metode nalaže da bi se na infektivno zbivanje trebalo posumnjati ukoliko su vrijednosti nezrelih granulocita značajno povišene (npr. >3%, normalne vrijednosti 0,2%-3%).(48)

### 7.2.3. OMJER NEUTROFILA I LIMFOCITA (NLCR)

Omjer neutrofila i limfocita (NLCR, prema eng. *neutrophil-lymphocyte count ratio*) jednostavni je izračun parametara koji se dobivaju diferencijalnom krvnom slikom te je kao takav vrlo privlačan zbog svoje jednostavnosti i dostupnosti u modernim kliničkim laboratorijima. Septična stanja obično su popraćena povišenim NLCR-om.(48)

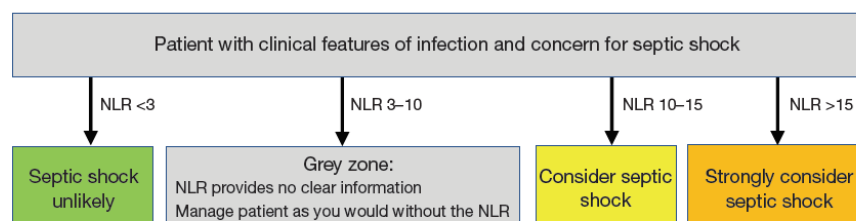
Točan mehanizam rasta neutrofila i pada limfocita u stanjima stresa još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Dosadašnje spoznaje nalažu da djelovanje endogenih kateholamina na  $\beta_2$  - adrenergičke receptore dovodi do smanjenja u otpuštanju limfocita, a stimulacija  $\alpha$ -adrenergičkih receptora povećava mobilizaciju granulocita.(48) Količina (49)granulocita i njihovih prekursora u perifernoj krvi je povećana, ali su narušeni kemotaksijiski mehanizmi i produkcija slobodnih radikala. U septičnim stanjima nastupa masovna apoptoza limfocita pri čemu dolazi do značajne deplecije CD4+ i CD8+ limfocita te ova dva osnovna mehanizma dovode do porasta granulocita i smanjenja limfocita, rezultirajući s povišenim NLCR-om.(34)

NLCR ima vrijeme indukcije od 6 sati te obzirom da raste brže nakon nastupa akutnog fiziološkog stresa od broja leukocita ili pojave skretanja u lijevo, može se zaključiti da je pouzdaniji marker ranog septičkog šoka u odnosu na dosad navedene pokazatelje. Važan nedostatak NLCR-a je što akutni stres dolazi u mnogo oblika, a samo jedan od njih je infekcija i posljedična sepsa. Povišeni NLCR može biti rezultat teške sustavne bolesti koja nije uzrokovana infekcijom, traume ili primjene egzogenih steroida te njegove limitacije nisu testirane u pacijenata oboljelih od hematoloških bolesti poput leukemije te u osoba koje se liječe kemoterapeuticima. Shodno tome, NLCR je karakteriziran relativno visokom osjetljivošću, ali niskom specifičnošću. Ukoliko se za prag u dijagnozi sepse i septičkog šoka uzima vrijednost NLCR-a veća od 3, osjetljivost iznosi 96 %, a specifičnost svega 10 %.(50) Povišenjem tog praga osjetljivost se smanjuje, a specifičnost povećava, ali čak i sa pragom od 10, specifičnost i dalje ostaje relativno niska (~65%). Ove vrijednosti uspoređivane su u osoba suspektno oboljelih od sepse te uspoređene s drugim najčešće korištenim markerima infekcije i upale, poput PCT-a, CRP-a i ukupnog broja leukocita, gdje je pokazano da porast NLCR-a najbolje korelira s porastom PCT-a.(50) Obzirom da tijekom infekcije može nastati leukocitoza ili leukopenija, NLCR se smatra superiornim u odnosu na ukupan broj leukocita, pokazuje slične te ponekad superiorne rezultate u usporedbi s CRP-om, ali je obično inferioran u usporedbi s PCT-om.(49,50) Osim za postavljanje dijagnoze teške sepse i septičkog šoka, neutrofilno-limfocitni omjer se može koristiti i za praćenje uspjeha terapije. U pacijenata koji dobro reagiraju na terapiju i oporavljaju se, razine NLCR-a počinju padati kroz nekoliko dana.(48)

Upotreba omjera neutrofila i limfocita ima dobre predispozicije da postane svakodnevna klinička praksa. Okvirno korištenje pragova uz sagledavanje cjelokupne

kliničke prezentacije te popraćeno drugim markerima moglo bi dati zadovoljavajuće rezultate u dijagnosticiranju i praćenju oboljelih od sepse kao i drugih stanja. 90-95 % pacijenata sa sepsom ima NLCR > 3, stoga možemo reći da NLCR < 3 ne podržava dijagnozu sepse, ali ju ni ne isključuje u potpunosti posebice u pacijenata oboljelih od teških bolesti kao i u stanjima kada postoji adrenalna insuficijencija. Značajno povišeni omjer (NLCR > 10) opravdava zaključak da bolesnik reagira na sustavni stres posljedično septičnom šoku ili nekoj drugoj životno ugrožavajućoj bolesti, ali zahtijeva dodatna istraživanja. Podjednako, s porastom NLCR-a možemo konkretnije zaključivati o postojanju sepse i septičkog šoka. Vrijednosti NLCR-a od 3 do 10 nazivaju se sivom zonom jer ne mogu pružiti jasnu informaciju o konkretnom stanju pacijenta, posebice u ranim stadijima bolesti, stoga se preporuča nastaviti s inicijalnim zbrinjavanjem privremeno zanemarujući vrijednosti NLCR-a. (48)(Slika 3.)

Ocjenjivanje težine sepse jedna je od potencijalnih funkcija NLCR-a u kojoj se pokazao boljim izborom od drugih markera. Iako drugi markeri mogu točnije i ranije diskriminirati postojanje infekcije u odnosu na NLCR, čini se da je on ipak bolji izbor u procjeni prognoze septičnih i teško oboljelih pacijenata.(49) Primjerice, osjetljivost pronalaska bakterijemije kao indikacije teškog oboljenja je veća u NLCR-a (80%) u odnosu na prokalcitonin (66 %). U pacijenata koji su zadovoljavali kriterij teške sepse, postignut je sličan rezultat s osjetljivošću NLCR-a koja je iznosila 85 % u odnosu na PCT čija je senzitivnost bila 70 %, a pri tome nije zahtijevalo uzimanje daljnjih uzoraka i upotrebu drugih dijagnostičkih markera te je općenito generiralo manje financijsko opterećenje.(50) Neke studije pobijaju ovu tvrdnju, ali zaključuju da je kombinacija NLCR-a s CRP-om i ukupnim brojem leukocita pokazala se kao najbolja dijagnostičko-prognostička metoda s obzirom na njihovu dostupnost i cijenu.



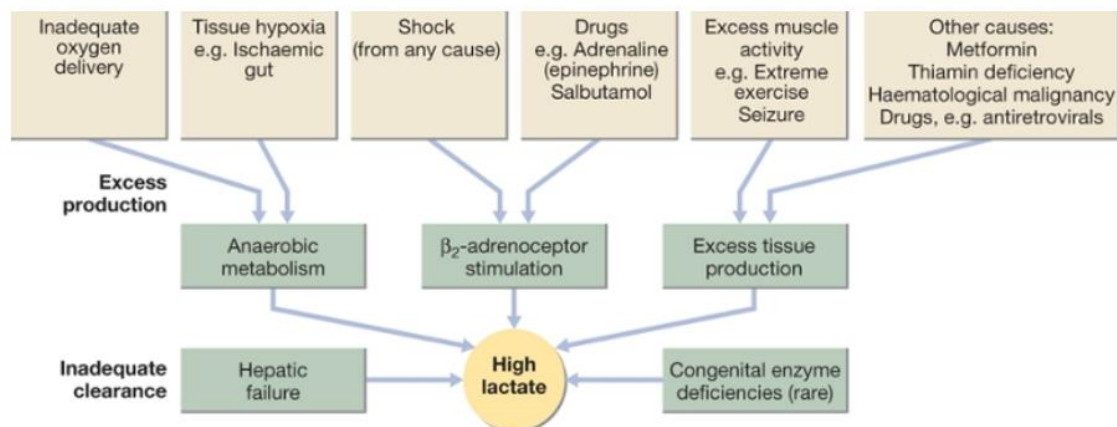
**Figure 1** Suggested approach to interpretation of the NLR in evaluation of septic shock. Note, however, that values may vary depending on the clinical context and other sources of physiologic stress. The NLR reflects physiologic stress, rather than being a specific indicator of septic shock. NLR, neutrophil to lymphocyte ratio.

Slika 3-Predloženi pristup u interpretaciji NLCR-a pri evaluaciji septičkog šoka. Prema: Farkas (2020.)

### 7.3. LAKTATI

Mliječna kiselina (2-hidroksipropionska kiselina,  $\text{CH}_3\text{CHCOOH}$ ) produkt je glikolize koji nastaje redukcijom piruvata uz NADH u anaerobnim uvjetima. Normalne razine kreću se od 0,6 do 2,4 mmol/L u venskoj krvi, a hiperlaktacidemijom smatra se kada razine laktata prijeđu 2,4 mmol/L.(30)

Uzroci porasta laktata u krvi su mnogobrojni, a uključuju povećano stvaranje mliječne kiseline i njeno neadekvatno odstranjivanje. Povećano stvaranje može biti posljedica anaerobnog metabolizma, stimulacije  $\beta_2$  - adrenergičkih receptora, povećanog stvaranja laktata posljedično jakoj aktivaciji skeletnih mišića, primjerice prilikom iscrpnog vježbanja ili u generaliziranim konvulzijama i drugih uzroka.(30) Anaerobni metabolizam i redukcija piruvata u laktat nastaje zbog nedostatne dostave kisika tkivima te tkivne hipoksije. Stimulacijom  $\beta_2$  - adrenergičkih receptora bilo od strane simpatičkog živčanog sustava u kompenziranim stadijima šoka ili djelovanjem lijekova poput egzogenog adrenalina ili salbutamola dolazi do povećane produkcije piruvata i inhibicije piruvat – dehidrogenaze.(30) Neadekvatno odstranjivanje može biti posljedica jetrenog zatajivanja ili rijetkih kongenitalnih enzimskih deficijencija.(30)



Slika 4-Fiziologija hiperlaktemije. Prema: Davidson's Principles and Practice of Medicine (2018.), str. 197

Razina laktata pokazala se kao izvrstan biomarker i prediktor teške sepse i septičkog šoka. Štoviše, razina laktata viša od 2 mmol/L usprkos adekvatnoj nadoknadi tekućine jedna je od komponenti definicije septičkog šoka.(1) Isto tako, povišene razine

adekvatno koreliraju sa smrtnošću. Međutim, smatra se lošim prediktorom razvoja sepse jer njegove plazmatske razine rastu ponajviše tek kada se smanji aortiovenska razlika tlakova i tkivni protok, nastupi suspsratna i hipoksična hipoenergoza, a organizam se preusmjeri u anaerobni metabolizam što je posebice izraženo u sepsi zbog poremećaja mikrocirkulacije.(23,51) Iako ga je nemoguće efektivno koristiti u dijagnostici sepse, svoju primjenu je pronašao u nekim drugim segmentima. Klirens laktata, iako tehnički netočan izraz, označava mjerenje plazmatskih razina laktata te se u studijama pokazao kao dobar način navođenja liječenja septičnih pacijenata gdje je smanjenje njegovih razina od početka nadomještanja tekućine pokazalo dobre ishode i smanjenu smrtnost.(51)

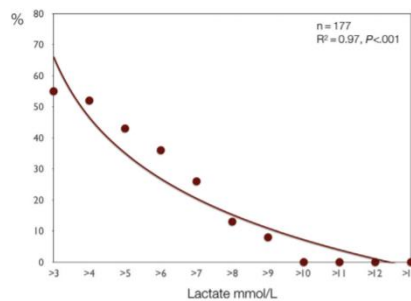


Fig. 1. Relationship between initial lactate level and survival in patients admitted with a lactate level of 3 mmol/L or more. Patients consist of the control group in the study by Jansen and colleagues.<sup>58</sup> (From Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, et al. Early Lactate-Guided Therapy in Intensive Care Unit Patients A Multicenter, Open-Label, Randomized Controlled Trial. Am J Respir Crit Care Med 2010;182(6):752-761.)

*Slika 5-Odnos između inicijalne razine laktata i preživljenja pacijenata zaprimljenih s razinama laktata većima od 3 mmol/L. Prema: Jansen i suradnici (2010.)*

Ispravno korištenje laktata može pomoći dijagnostici i navođenju liječenja te pruža ranu i objektivnu procjenu pacijentova odgovora na terapiju. Ukoliko uz povišene razine laktata postoje i znakovi tkivne hipoperfuzije poput hipotenzije, tahikardije, poremećene periferne cirkulacije te promijenjenog mentalnog statusa, potrebno je izmjeriti centralnu vensku saturaciju krvi kisikom ( $ScvO_2$ ) ili neku drugu vrijednost koja ukazuje na respiratorni kvocijent (npr.  $\Delta pCO_2$ ).<sup>(51)</sup> Rezultati ovih metoda trebali bi navoditi inicijalnu terapiju s ciljem smanjenja razina laktata i osiguranja dostatne tkivne perfuzije, a mjerenja bi se trebala ponavljati svaka dva sata. Istraživanja su pokazala dobre učinke ovako navođene terapije u prvih 6 do 8 sati od zaprimanja pacijenta, ali isto tako i nedostatak benefita pri navođenju terapije po razinama laktata nakon tog inicijalnog perioda.<sup>(51)</sup>

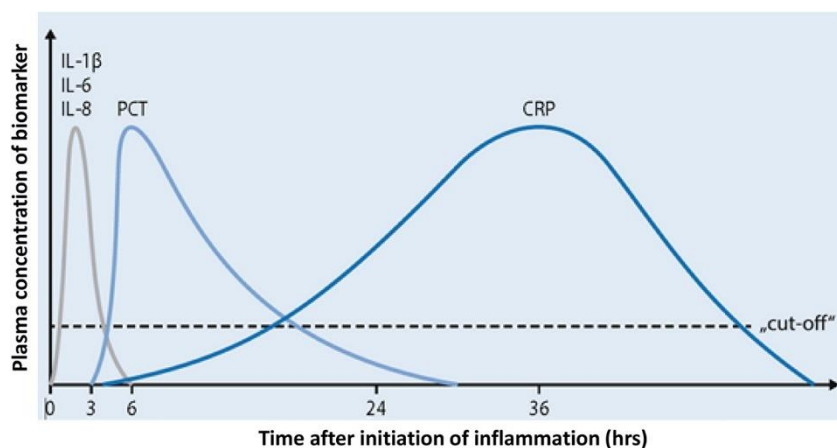
## **8. REAKTANTI AKUTNE FAZE**

Reaktanti akutne faze (APR, prema eng. *Acute phase reactants*) su inflamatorni markeri čija se serumska koncentracija značajno mijenja prilikom upale, kako akutne tako i kronične. Dijele zajedničko obilježje da im je sinteza ponukana ponajviše stimulacijom IL-6, ali i drugim proinflamatornim citokinima poput TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  te IFN- $\gamma$ . APR-ove možemo podijeliti u dvije velike skupine, pozitivne i negativne APR-ove.(52) Pozitivni APR-ovi su oni čija produkcija i serumske koncentracije rastu prilikom upalnog odgovora, a važniji su prokalcitonin, C-reaktivni protein, protein koji veže lipopolisaharid, feritin, fibrinogen, hepcidin i serumski amiloid A. Negativni APR-ovi su oni čija se sinteza i serumske koncentracije smanjuju tijekom upalnog odgovora te uključuju albumin, prealbumin, transferin, protein koji veže retinol i antitrombin. Svojim zajedničkim djelovanjem dovode do bihevioralnih, psiholoških, biokemijskih i nutritivnih promjena koje se klinički prezentiraju kao vrućica, anemija kroničnih bolesti, anoreksija, somnolencija, letargija, amiloidoza i kaheksija karakterizirane kao gubitak masti i mišića, anoreksija i slabost. Potrebno je napomenuti da se radi ponajprije o nespecifičnim upalnim markerima stoga bi njihova upotreba uvijek trebala biti popraćena kvalitetno ispitanom anamnezom, detaljnim kliničkim pregledom kao i drugim laboratorijskim pretragama i slikovnom dijagnostikom.(52) Uloga APR-a do danas nije u potpunosti razjašnjena, ali se pretpostavlja da sudjeluju u prilagodbi i organizaciji adekvatnog odgovora organizma na upalu, adaptaciji organizma na štetnu noxsu te cijeljenju i oporavku organizma.(53)

Ovaj rad razmotrit će uloge C-reaktivnog proteina, prokalcitonina i proteina koji veže lipopolisaharid u organizaciji upalnog odgovora te mogućnosti koje oni nude kao potencijalni markeri sepse u postavljanju dijagnoze sepse, procjeni težine stanja i prognoze te u navođenju liječenja septičnih pacijenata. Sedimentacija eritrocita koja je indirektni reaktant akutne faze, stimuliran ponajprije porastom fibrinogena, obrađena je u poglavlju 7.1.

## 8.1. C-REAKTIVNA BJELANČEVINA (CRP)

C – reaktivni protein je bjelančevina akutne faze čija razina višestruko raste unutar 24 sata od djelovanja nokse poput oštećenja tkiva, upale ili infekcije. Sintetizira se od strane hepatocita kao odgovor na stimulaciju citokinima IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$ , ali najjači stimulus prouzrokuje IL-6.(45) Njegove razine počinju rasti 12 do 24 h nakon početka upale, vrhunac dostižu kroz 2 do 3 dana, a poluživot mu je oko 19 sati.(5) Razine CRP-a u homeostazi su niske te u većine populacije iznose do 2 mg/L s napomenom da se moraju uzeti u obzir i razlike u dobi, spolu i rasi pa se razine do 10 mg/L smatraju fiziološkima, odnosno mogu biti posljedica metaboličkih upalnih stanja uzrokovanih pušenjem, uremijom, srčanom ishemijom i drugim niskoupalnim neinfektivnim stanjima.(45) Pri akutnom odgovoru njegove koncentracije rastu oko tisuću puta, a povišene su u brojnim upalnim stanjima te je iz tog razloga njegova klinička uloga vrlo šarolika.(23) Naime, govorimo o široko primjenjivanom indikatoru upale koji se koristi za rano postavljanje dijagnoze, razlikovanje infektivnih od neinfektivnih bolesti, praćenje stanja tj. evaluaciji trendova tijekom bolesti i primjene terapije te navođenje antibiotske terapije.(5)

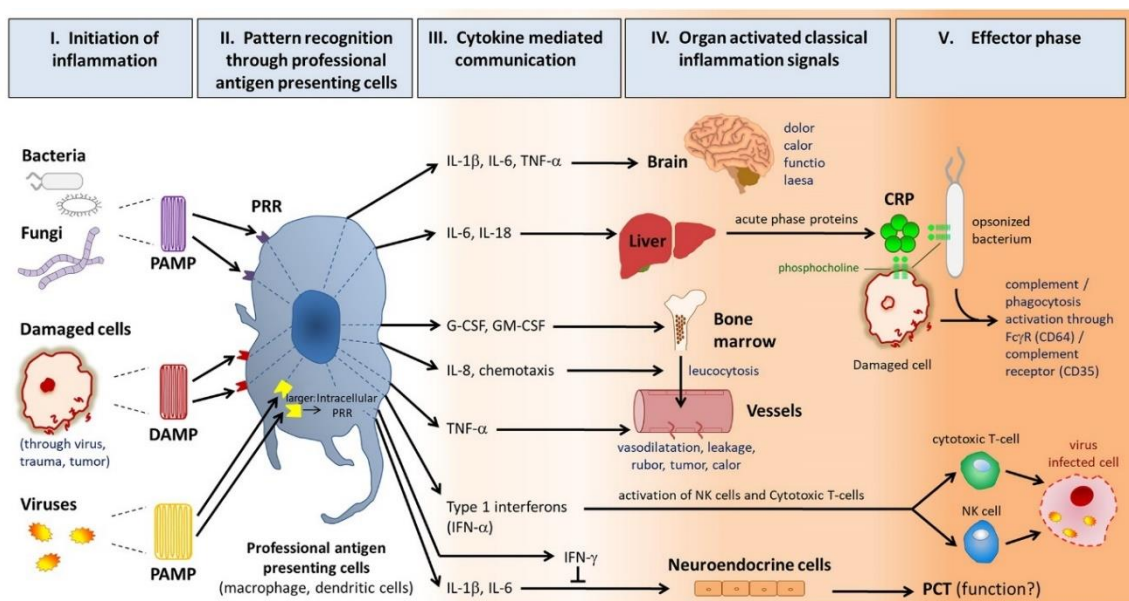


Slika 6- Kinetika IL-1, IL-6, IL-8, PCT-a i CRP-a. Prema: Niehues (2018.)

Obrambena funkcija očituje se u njegovom djelovanju poput opsonina koji se veže za stijenku bakterije, krhotine stanica, kromatin i imunokomplekse, a uz to može i aktivirati komplement klasičnim putem. Opsonizacija ima ulogu poticanja domaćinove prirodene imunosti te olakšavanja fagocitoze što podjednako štiti domaćina od razvoja autoimunskih reakcija uklanjanjem potencijalno imunogenih čestica. Osim toga,



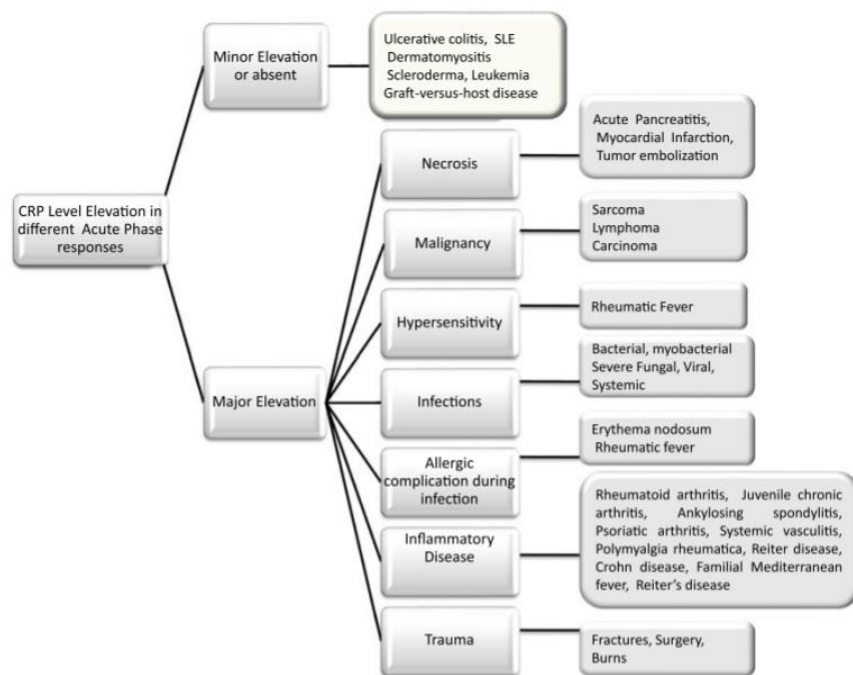
CRP ima i imunoregulacijsku ulogu u aktivaciji supresijskih limfocita T i svojim vezanjem za limfocite T smanjuje njihovu proliferaciju te stvaranje limfokina.(23)



Slika 7-Fiziološki upalni odgovor i uloga uključenih molekula koje se koriste kao markeri sepse. Prema: Niehues (2018.)

Osjetljivost i specifičnost CRP-a mijenjaju se ovisno o pragu koji se uzima kao granična vrijednost za postavljanje dijagnoze sepse. Pri *cut-off*-u od 20 mg/L ima relativno visoku osjetljivost od 87 %, ali nisku specifičnost od 14 %. Podizanjem praga specifičnost raste (49 %) na račun sniženja osjetljivosti testa (56 %).(50) Objašnjenje niske specifičnosti leži u činjenici da je CRP univerzalan marker akutnofaznog odgovora organizma i mnoga zbivanja mogu potaknuti njegov rast te su njegove vrijednosti ovisne su o etiologiji upale. Niže vrijednosti mogu se pronaći u stanjima poput ulceroznog kolitisa, SLE, skleroderme, leukemije i GVHD. Ateroskleroza također povisuje vrijednosti CRP-a, stoga se on može koristiti u svrhu formiranja skupina kardiovaskularnog rizika i podjele na niski (<1 mg/L), srednje visoki (1-3 mg/L) i visoki rizik (>3 mg/L). Teške bakterijske infekcije te opekline imaju tendenciju postići značajno više vrijednosti (100-200 mg/L), nego što to imaju stanja poput virusnih infekcija (10-40 mg/L).(54) Visoke razine CRP-a popraćene adekvatnom kliničkom slikom mogu opravdati sumnju na infekciju i bakterijemiju, ali postoje markeri koji bolje razlikuju infektivna stanja od neinfektivnih , a jedan od njih je i PCT s kojim se CRP često uspoređuje.(55) Manjkavost CRP-a u ranoj dijagnostici sepse te ranom navođenju antibiotske terapije očituje se i u nepostojanju disproporcije u porastu

CRP-a ovisno o tome je li infekcija uzrokovana Gram-pozitivnim ili Gram-negativnim bakterijama, što je isto tako jedna od prednosti PCT-a. Ipak, na temelju povišenih vrijednosti možemo zaključiti da je bakterijska infekcija najvjerojatniji uzrok povišenja CRP-a te da je antibiotska terapija potrebna.(56) Dakako, potrebno je napomenuti da je započinjanje antimikrobne terapije isključivo na temelju povišenih razina proteina akutne faze, ali bez znakova infekcije krajnje neopravdano i može biti štetno za pacijenta jer ne mogu dostatno predvidjeti individualnu etiologiju infekcije i sepse.(57)



**Fig. 1** CRP in different types of acute-phase response and disease. CRP level is either elevated in a major or minor (sometimes very modest or absent) way in different acute-phase responses [45]. An acute-phase response includes inflammatory disease, trauma, necrosis, malignancy, infections and allergic complications during infection and hypersensitivity. In different inflammatory diseases, CRP was measured as a routine clinical test and also used for quantitative estimation of the disease activity. CRP level was also measured as routine tests including differential diagnosis among diseases, for example SLE versus Rheumatoid arthritis. To diagnose, differentiate and manage different kind of infections, CRP is also measured clinically

*Slika 8- Porast razina CRP-a u različitim vrstama akutnofaznog odgovora i bolestima. Prema: Ansar i Ghosh (2013.)*

Nijedan dosada identificirani marker nije pokazao dovoljnu osjetljivost i specifičnost u navođenju inicijalne antibiotske terapije te se i dalje u započinjanju terapije navodimo internacionalnim smjernicama i poznavanjem antibiotske rezistencije u lokalnoj populaciji. Ipak, funkcija markera u tim situacijama ponajprije se odnosi na procjenu adekvatnosti inicijalne terapije i pacijentova odgovora na istu, određivanje trenutka kad prijeći s parenteralne na oralnu terapiju, kada s terapijom prestati te kako smanjiti štetne posljedice i financijski teret antimikrobnog liječenja. Određivanje serumskih

koncentracija CRP-a pokazalo se kao brz, jednostavan i jeftin način rješavanja ovih pitanja te se danas smatra rutinskom kliničkom praksom.(58) Studije su pokazale da je mjerenje CRP razina korisno već od trećeg dana bolesti jer pokazuje odgovor pacijenta na terapiju te može rezultirati manjom potrošnjom antibiotika ukoliko se bolesnikovo stanje poboljšava, time smanjujući nepoželjne učinke antimikrobne terapije, cijenu liječenja kao i potencijalno smanjenje razvoja rezistencije na antibiotike. S druge strane, u pacijenata u kojih se stanje ne poboljšava te razine CRP-a značajno ne padaju, može se zaključivati o nedostatnosti inicijalnog liječenja i posljedičnom razvoju komplikacija, a samim time usmjeriti kliničara prema korištenju agresivnijih dijagnostičkih i terapijskih metoda kako bi se spriječilo daljnje pogoršanje i negativni ishodi.(59) Usprkos njegovoj dugovječnosti u kliničkoj uporabi, brojne studije daju prednost drugim markerima.

## 8.2. PROKALCITONIN (PCT)

Prokalcitonin je protein akutne faze, prohormon iz kojega nastaje kalcitonin i koji se sastoji od 116 aminokiselina za koje kodira gen *CALC1* na kromosomu 11, a produciraju ga primarno parafolikularne C-stanice štitnjače te neuroendokrine stanice pluća i crijeva.(60) U normalnim uvjetima su njegove koncentracije u krvi niske i obično manje od 1 ng/mL, a *CALC1* gen je u ekstratiroidnim tkivima suprimiran.(60)

Prve spoznaje koje su uvele PCT u proces dijagnostike i praćenja septičnih pacijenata dobivene su 1993. godine kada su zamijećene njegove visoke razine tijekom invazivnih bakterijskih infekcija koje su padale tijekom primjene antibiotske terapije dok su koncentracije kalcitonina ostajale iste, upućujući na neku drugu ulogu PCT-a osim u formiranju kalcitonina.(61) Naime, tijekom infekcije započinje transkripcija *CALC1* gena u neruoendokrinim stanicama pluća i crijeva kao odgovor na proinflammatorne citokine producirane od strane makrofaga nakon fagocitoze bakterija (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) i bakterijske endotoksine te one započinju produkciju PCT-a.(61) (Slika 7) Njegove razine počinju rasti 3 do 4 sata nakon početka djelovanja nokse, vrhunac dostižu nakon 6 do 24 sata, a poluživot mu je između 24 i 35 sati.(5) (Slika 6) Brža indukcija daje mu prednost nad CRP-om koji raste sporije, ali nedostatak se očituje u osoba koje imaju bubrežno zatajenje odnosno koje su na bubrežnoj nadomjesnoj terapiji jer one imaju trajno povišene razine PCT-a. Iako su njegove

razine povišene i tijekom pankreatitisa, politraume te nakon opsežnih operacija, razine prokalcitonina ipak su najviše tijekom sustavnih bakterijskih infekcija.(5) Dodatna prednost očituje se i u bolesnika koji imaju sistemne autoimunosne bolesti te u pacijenata tretiranih kortikosteroidima i imunosupresivnom terapijom jer razine PCT-a ne ovise o navedenim stanjima.(60) Proces indukcije PCT-a donekle je poznat, ali njegov mehanizam djelovanja u infekciji i upalnom odgovoru ostaje do danas uglavnom nerazjašnjen. Studije su dosada povezale porast PCT-a s amplifikacijom inflamatorne kaskade, povećanom ekspresijom CD16 i CD14 na neutrofilima i limfocitima, povećanjem razina citokina produciranih od strane leukocita (ponajprije TNF- $\alpha$ ), poremećajem u kemotaksiji leukocita te povećanjem razina NO.(60)

Dijagnoza sepse donekle je lakša uz korištenje PCT-a kao markera u odnosu na druge navedene dijagnostičke testove. Kao što je navedeno, drugi uzroci mogu biti razlog povišenja PCT-a u serumu, ali najjači stimulus je bakterijska infekcija. U normalnim uvjetima razine prokalcitonina su gotovo nemjerljive te iznose manje od 0.15 ng/mL, a razine iznad 2 ng/mL vrlo su sugestivne za sustavnu bakterijsku infekciju. Vrijednosti između 0.15 i 2 ng/mL ne isključuju postojanje infekcije s obzirom da porast PCT-a može ukazivati i na postojanje lokalizirane bakterijske infekcije.(62) Osim što možemo postaviti više ili manje čvrstu granicu za sumnju na sepsu, PCT se pokazao značajno osjetljivijim i specifičnijim u odnosu na ostale markere poput leukocita, CRP-a i citokina (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Meta-analiza 30 studija ukazala je na prosječnu osjetljivost od 77 % i specifičnost od 79 % u dijagnosticiranju sepse, ali i dalje preporuča korištenje prokalcitonina s drugim markerima.(63) Korištenje pojedinačnih markera često rezultira s preniskom specifičnošću dijagnostičkog testa. Ovaj problem se može ukloniti korištenjem više markera odjednom pri čemu se dobiva visoka osjetljivost i specifičnost, uz nedostatak visoke cijene testiranja. Sukladno tomu, prokalcitonin se pokazao kao marker koji ima zadovoljavajuću osjetljivost, ali i dalje nisku specifičnost, stoga neke studije upućuju na prednost korištenja više markera odjednom čime bi se značajno povećala specifičnost pri dijagnosticiranju infekcije, bakterijemije i sepse. Primjerice, jedna studija navodi da se korištenjem CRP-a pri *cut-off*-u od 200 mg/L postiže visoka osjetljivost (88 %), a uz dodatno korištenje PCT-a pri *cut-off*-u od 10.0 ng/mL i laktata s minimalnom vrijednošću od 4 mmol/L postiže se specifičnost od 97 %.(50) Treba napomenuti da iako je PCT izvrstan marker za procjenu postojanja bakterijemije i sepse, njegov nedostatak se očituje u populaciji novorođenčadi u prvih

72 sata života koji imaju fiziološki povišene razine što donekle isključuje mogućnost njegova korištenja kao indikatora bakterijemije i sepse u tom vremenskom periodu.(62)

Rješenje relativne neadekvatnosti tradicionalnih markera poput CRP-a i ukupnog broja leukocita u procjeni smrtnosti i negativnih ishoda u septičnih pacijenata, moglo bi biti ponuđeno u obliku PCT-a. Jedno istraživanje je pokazalo da razine PCT-a već pri zaprimanju pacijenta dobro odgovaraju težini stanja ovisno radi li se o SIRS-u, sepsi ili septičkom šoku. Daljnjim praćenjem razina pokazano je da su razine PCT-a u preživjelih imale značajniju tendenciju pada tijekom boravka u JIL-u, što nije slučaj u pacijenata koji nisu preživjeli.(Slika 9) Naime, u slučajevima negativnog ishoda razina PCT-a nije značajnije padala u prvih 48 sati od zaprimanja u JIL te se tijekom boravka nije spuštala ispod 1.1 ng/mL, a u većine koji su preživjeli, vrijednosti su nakon osam dana pale ispod 1.1 ng/mL.(64)

Meta-analiza studija koje su koristile PCT algoritme za navođenje antibiotske terapije na temelju skupnih rezultata predlaže postupnik uz podjelu slučajeva na one niskog, srednjeg i visokog rizika. U skupinama niskog rizika, primjerice jednostavnim infekcijama gornjeg ili donjeg respiratornog trakta koje mogu biti liječene ambulantno, primarno se javlja problematika započinjanja antibiotske terapije te se predlaže da se antimikrobno liječenje može započeti ukoliko je razina prokalcitonina veća od 0.25 ng/mL, a kontrola se obavlja po potrebi i PCT se ponavlja ukoliko nije došlo do poboljšanja simptoma kroz 2 do 3 dana. U skupini srednjeg rizika, primjerice slučajevi pneumonija zbrinjavanih u hitnom prijemu i koji su naknadno hospitalizirani, predlaže

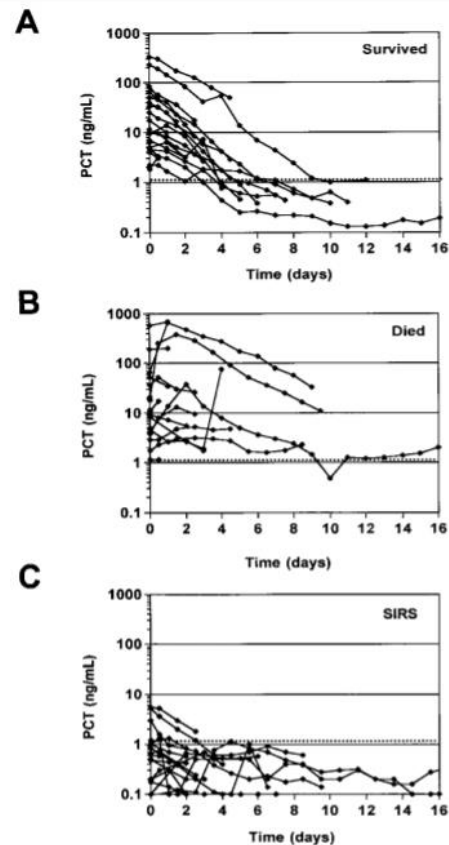


Figure 3. Daily variations of procalcitonin (PCT) levels during ICU hospitalization. (Panel A) Patients admitted with severe sepsis and septic shock who survived. (Panel B) Patients admitted with severe sepsis and septic shock who died. (Panel C) Control patients admitted with SIRS and initial suspicion of infection.

Slika 9- Dnevne varijacije razina PCT-a u bolesnika hospitaliziranih u JIL-u. Prema: Harbarth i suradnici (2001.)

se započinjanje antibiotske terapije ukoliko su razine PCT-a veće od 0.25 ng/mL, s ponavljanjem testa nakon 6 do 12 sati i potom svaka 2 do 3 dana, a terapija se održava sve dok su vrijednosti više od 0.25 ng/mL. Pacijenti zaprimljeni u JIL činili su treću skupinu, onu visokog rizika te pitanje koje se postavlja u njih nije ono započinjanja antimikrobne terapije, već pitanje kada s istom prestati. Pri tome smjernice preporučuju prekid antibiotske terapije ukoliko se vrijednosti PCT-a spuste ispod 0.5 ng/mL, odnosno padnu za 80 % od inicijalne prezentacije i mjerenja. Korištenjem ovih smjernica zabilježeno je smanjenje u potrošnji antibiotika, težine bolesti i trajanju hospitalizacije.(65) Nešto novija meta-analiza došla je do sličnog zaključka te govori ponajprije o skraćanju trajanja antibiotske terapije u prosjeku sa osam na šest dana u skupini pacijenata oboljelih od teške sepse čija je terapija bila navođena PCT-om, a pri tome nisu zamijećene razlike u duljini hospitalizacije, boravka u JIL-u te 28-dnevne smrtnosti. Ipak, u istom istraživanju se naglašava da algoritmi navođenja antibiotske terapije prema PCT-u i dalje nisu standardizirani te postoje značajne razlike između analiziranih studija u određivanju granične vrijednosti pri kojoj se prestaje primjenjivati antimikrobna terapija.(66)

### 8.3. PROTEIN KOJI VEŽE LIPOPOLISAHARID (LBP)

Lipopolisaharid, poznat i kao endotoksin, bifosfolirana je polarana makromolekula koja čini intrinzični dio stanične stijenke gram-negativnih bakterija i odgovorna je za lepezu imunskih odgovora tijekom infekcije. Endotoksin je jedan od najvažnijih patogenih čimbenika bez kojega bi inače žestoka upalna reakcija bila značajno blaža što i pokazuje istraživanje na genetski modificiranoj *N. meningitidis* koja nije ekspresionirala LPS i posljedično je 100 puta slabije inducirala proizvodnju proinflammatoryh citokina.(67) Važno je istaknuti da LPS sam po sebi nije intrinzično toksičan.(22) Učinak LPS-a kao jednog od PAMP-ova posredovan je vezanjem endotoksina na TLR4 receptor na imunskim stanicama koji preko 4 osnovna puta (MyD88, TIRAP, TRIF i TRAM) inducira nuklearnu translokaciju NF- $\kappa$ B te dovodi do povećane transkripcije i potom sinteze proinflammatoryh citokina koji potiču upalni odgovor.(5) Ti ,proinflammatory citokini, ponajprije IL-1 i IL-6, isto tako su i odgovorni za stimulaciju hepatocita i sintezu proteina koji veže lipopolisaharid (LBP, prema eng. *Lipopolysaccharide binding protein*).(68)



Protein koji veže lipopolisaharid spada u skupinu proteina akutne faze zajedno s CRP-om i PCT-om, a glavna funkcija mu je vezanje LPS-a i lipoteikoične kiseline (LTA), ali i drugih PAMP-ova koji potiču od spiroheta, gram-pozitivnih bakterija i mikobakterija.(68) Radi se o glikoziliranom proteinu veličine 58 kDa čije se koncentracije povećavaju i do 30 puta tijekom upalnog odgovora.(69) U ljudskoj plazmi se nalazi u relativno velikim količinama, a stimulacijom njegove produkcije tijekom upalnog odgovora povećava se sposobnost vezanja LPS-a iz cirkulacije te njegove dostave molekuli CD14 koja potom

prenosi endotoksin na MD2 s kojim stvara kompleks LPS-MD2. Tek taj kompleks ima mogućnost aktivacije TLR4 receptora koji će putem MyD88 i TRIF intracelularnih puteva uzrokovati nuklearnu translokaciju NF- $\kappa$ B i započeti pojačanu produkciju proinflammatoryh citokina.(68) Ipak, ovaj proces odvija se u početku upalne reakcije pri nižim razinama LBP-a u plazmi, ali njenim daljnjim napredovanjem i porastom LBP-a u plazmi inhibira se aktivnost LPS-a. Nadalje, u istraživanjima je pokazano da LBP ima funkciju opsonina *in vivo*, pri čemu se veže na LPS koji je i dalje integriran u staničnu stijenku gram-negativnih bakterija kao i na LPS koji oblaže eritrocite te na taj način potiče aktivaciju makrofaga.(69)

Plazmatske razine LBP-a rastu u SIRS-u, sepsi, ali i pri akutnoj traumi nakon stimulacije hepatocita interleukinima 1 i 6. U odrasle osobe u homeostazi njegove razine se kreću od 5 do 15  $\mu$ g/mL, a prilikom akutnofaznog odgovora rastu u sljedećih 24 do 48 sati postižući svoj vrhunac nakon 2 do 3 dana, potencijalno i do 30 puta veće u odnosu na osnovne vrijednosti.(69,70) (Slika 10.) Usprkos zadovoljavajućoj brzini indukcije i adekvatnom porastu vrijednosti, LBP se ipak smatra nespecifičnim markerom jer je njegova produkcija stimulirana i u drugim stanjima koja uzrokuju SIRS poput politraume, opekline ili pankreatitisa, a pri tome se razine značajno ne razlikuju

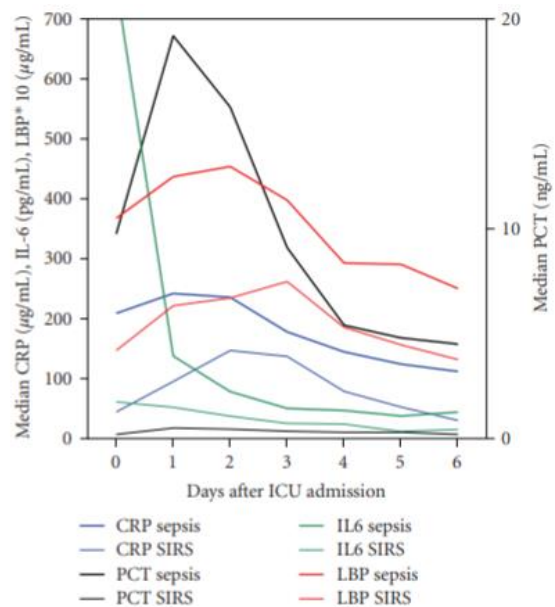


FIGURE 2: Median CRP, PCT, LBP, and IL-6 levels in patients with sepsis and SIRS during ICU admission.

Slika 10- Srednje vrijednosti razina CRP-a, PCT-a, LBP-a i IL-6 u pacijenata sa SIRS-om i sepsom prilikom zaprimanja u JIL. Prema: Critical Care Research and Practice Volume 2011., Article ID 594645

od SIRS-a infektivne etiologije. Iz tog razloga ne možemo na temelju vrijednosti LBP-a zaključivati o tome je li upalna reakcija posljedica infektivne ili neinfektivne nokse.(71) Pomoću razina izmjerenih pri zaprimanju pacijenata pokušalo se diferencirati težinu stanja, ali i u ovom aspektu je LBP podbacio. Naime, dva istraživanja ukazuju na relativno male promjene u vrijednostima LBP-a u pacijenata sa SIRS-om, sepsom i septičkim šokom, gdje je jedna studija zabilježila medijan vrijednosti od 30.6 µg/mL za SIRS, 37.1 µg/mL za sepsu i 59.7 µg/mL za septički šok, a druga 16.3 µg/mL za SIRS i 30.9 µg/mL za sepsu.(70,71) Pri tome, druga studija je zabilježila 10 puta veće vrijednosti PCT-a i IL-6 u septičnih pacijenata u odnosu na one sa SIRS-om, dok su vrijednosti LBP-a bile svega 1.5 do 2 puta veće u septičnih pacijenata.(70) Nadalje, LBP je pokazao relativno nezadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost pri postavljanju dijagnoze SIRS-a i sepse, gdje pri *cut-off*-u od 20 µg/mL osjetljivost iznosi 78.3 %, a specifičnost 64.2 %, dok pri podizanju *cut-off*-a na 40 µg/mL osjetljivost pada na 37.7 %, a specifičnost raste na 91.0 %.(71)

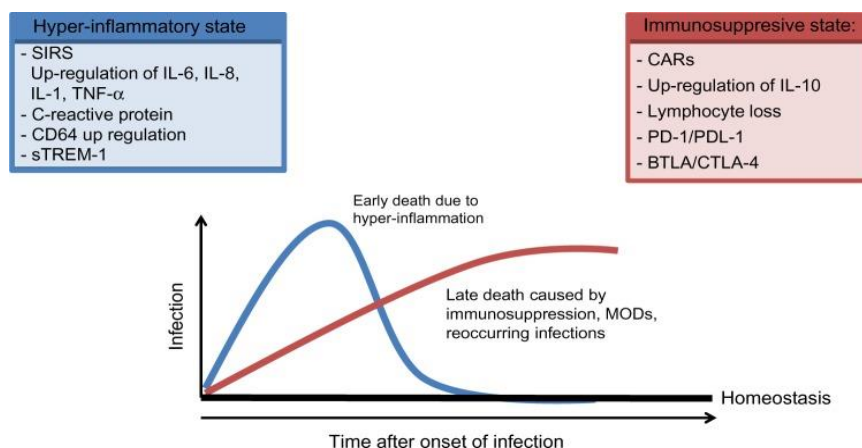
Autori navedenih studija zagovaraju dodatna istraživanja kako bi se detaljnije procijenila mogućnost korištenja LBP-a kao markera sepse. Usprkos razočaravajućim rezultatima u populacijama odraslih septičnih pacijenata, funkcija LBP-a mogla bi se pronaći u ranoj dijagnostici novorođenačke sepse. U studijama je pri *cut-off*-u od 17.5 µg/mL pokazao visoku osjetljivost od 94.1 % i relativno visoku specifičnost od 77.8 % pri dijagnosticiranju sepse.(72)



## 9. CITOKINSKI MARKERI

Sepsa može biti podijeljena u dva dijela; prvi dio je hiperinflamatorno stanje posredovano urođenom imunošću koje se razvija na početku reakcije te drugi dio koji čini imunosupresivno stanje posredovano urođenom i stečenom imunošću.(5) U ovim procesima važna je uloga citokina, niskomolekularnih glikoproteina, čija je općenita uloga posredovanje u međustaničnoj komunikaciji. Oni sudjeluju u poticanju aktivacije, proliferacije i diferencijacije stanica te posredovanju ili reguliranju imunoreakcije i upalnih procesa, a mogu djelovati i citotoksično. Karakterizira ih kaskadno lučenje i stvaranje tzv. *citokinske mreže* koja se sastoji od citokina koji pozitivnom povratnom spregom pojačavaju vlastito lučenje kao i lučenje drugih proupalnih citokina, ali se simultano pojavljuju i anticitokini koji svojim djelovanjem inhibiraju daljnje lučenje citokina koji potiču upalni odgovor.(24) Pri tome, u SIRS-u koji je odgovoran za staničnu smrt u ranim fazama upalnog odgovora očituje se učinak proinflamatornih citokina od kojih su najvažniji IL-1, IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$ . S druge strane, u drugoj fazi septičnog odgovora karakteriziranog imunosupresijom ponajprije se primjećuje djelovanje antiinflamatornih citokina poput IL-10. Interleukini su skupina citokina koji su ime dobili po tome što ih luče leukociti i djeluju na leukocite, ali danas se zna da ih mogu lučiti gotovo sve nukleirane stanice.(24) Njihov porast često je prvi korak u razvoju upalnog odgovora na infekciju koji dovodi do daljnjih promjena u parametrima koje možemo smatrati markerima sepse. Iz tog razloga, određivanje njihovih koncentracija pri inicijalnoj prezentaciji moglo bi olakšati i ubrzati postavljanje dijagnoze sepse, a serijsko mjerenje njihovih koncentracija pomoći u procjeni prognoze, terapijskog učinka te navođenju liječenja septičnih pacijenata. U daljnjem tekstu bit će proučena uloga IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 i TNF- $\alpha$  kao potencijalnih markera sepse.

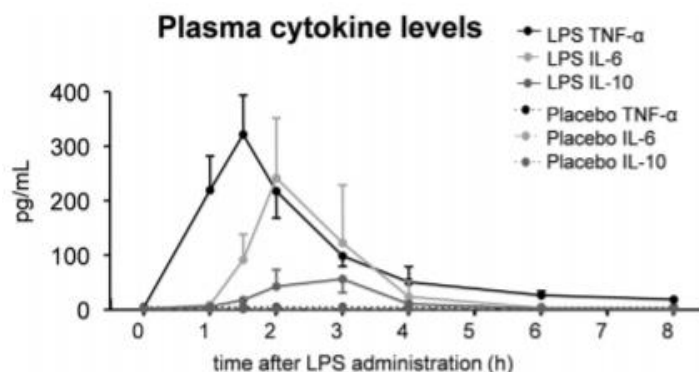
Slika 11- Aktivacija proinflamatornih i antiinflamatornih imunoloških odgovora domaćina na teške ozljede i sepsu. Prema: Biron i suradnici (2015.)



## 9.1. INTERLEUKIN 6 (IL-6)

Interleukin 6 je niskomolekularni glikoprotein veličine 19-26 kDa koji spada u skupinu citokina prirodne imunosti tj. proupalnih citokina čiju sintezu i lučenje potiču bakterijski toksini, imunokompleksi, fagocitoza, oksidativni radikali, virusna dvolančana DNA, leukotrijeni, kemokini i drugi citokini, ponajprije IL-1 i TNF- $\alpha$ , a osobito jaki stimulans je lipopolisaharid (LPS) iz stanične stijenke gram-negativnih bakterija. Produciraju ga makrofagi, endotelne stanice i limfociti T, a svoje djelovanje ostvaruje putem hematopoetinskih receptora gdje vezanjem za njih uzrokuje agregaciju receptora i pokreće aktivacijsku kaskadu tirozinskih protein-kinaza te uzrokuju transkripciju pojedinih gena, pojačavajući inflamatorni odgovor stanica. Svojim djelovanjem potiče proizvodnju proteina akutne faze u jetrima na što ima značajno jači učinak nego IL-1 i TNF- $\alpha$  te inducira rast i diobu jetrenih stanica. Djeluje blago pirogeno te ima vrlo važno imunostimulacijsko djelovanje od čega je najvažnije poticanje završne diferencijacije limfocita B u plazma-stanice i poticanje rasta i diferencijacije limfocita T prema Th2 limfocitima.(24)

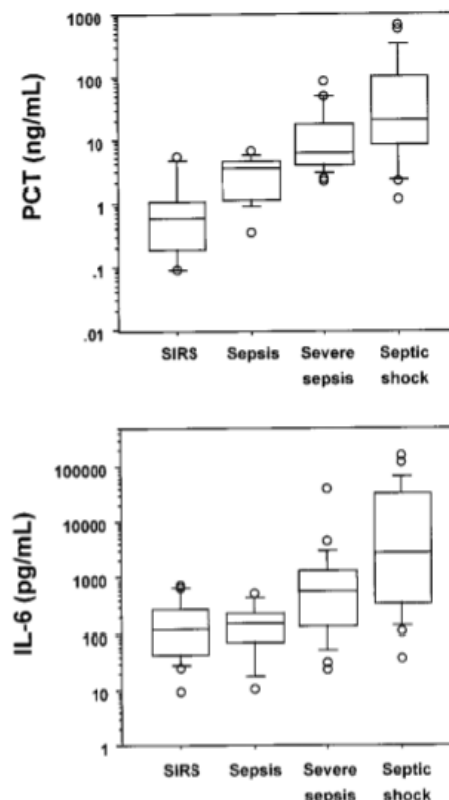
Porast IL-6 potenciran je upalnom reakcijom i njegove vrijednosti rastu vrlo brzo nakon njenog početka te je samim time potencijalno dobar marker za rano postavljanje dijagnoze sepse. Ipak, radi se o nespecifičnom markeru koji raste ponajprije kao rezultat upalnog procesa koji može biti posljedica sustavne, ali i lokalne infekcije, sepse ili kroničnog upalnog procesa. Bolesti poput sistmenog eritematoznog lupusa, reumatskog artritisa, ankilozantnog spondilitisa i upalnih bolesti crijeva mogu biti uzrok



**FIGURE 3** | Plasma levels of the cytokines TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-10 in 30 subjects who received an intravenous administration of lipopolysaccharide (LPS) ( $n = 15$ ) or placebo ( $n = 15$ ) at  $T = 0$ . Data are represented as median [IQR].

Slika 12- Porast plazmatskih razina TNF- $\alpha$ , IL-6 i IL-10 nakon administracije lipopolisaharida. Prema: Koch i suradnici (2017.)

porasta IL-6, što se patofiziološki objašnjava činjenicom da imunostane stanice mogu biti stimulirane od strane PAMPs-a kao i DAMPs-a što dalje potencira razvoj reakcije vrlo slične onoj koju proizvodi mikrobiološki patogen, no najjači poticaj rastu njegovih vrijednosti je LPS.(73) Razine IL-6 u serumu su u normalnim uvjetima niže od 5 pg/mL, a nakon infektivnog stimulusa rapidno rastu u prvih sat vremena te maksimalne koncentracije postižu nakon 2 sata. (Slika 12.) Brzi rast daje mu prednost pred konvencionalnim markerima poput CRP-a i PCT-a čija indukcija je značajno sporija iako i dalje relativno brza. Iako granične vrijednosti pri kojima bi trebalo posumnjati na sepsu nisu još jasno definirane, jedno istraživanje pokazalo je visoku osjetljivost i specifičnost u dijagnozi sepse kada se koristila granična vrijednost od 50 pg/mL te nešto niža, ali i dalje značajna osjetljivost i specifičnost pri dijagnozi septičnog šoka kada se koristila granična vrijednost od 350 pg/mL.(74) Meta-analiza istraživanja koja su mjerila razinu IL-6 u potencijalno septičnih pacijenata dala je prosječnu osjetljivost od 72 % i prosječnu specifičnost od 77 % u dijagnosticiranju SIRS-a, sepse i septičnog šoka. Ista studija daje prednost prokalcitoninu u dijagnostici sepse jer se pokazalo da PCT bolje diskriminira razliku u težini kliničkog stanja tj. povišenje razina PCT-a je veće ovisno prezentira li se pacijent sa SIRS-om, sepsom ili septičnim šokom dok razine IL-6 nisu uvijek pokazivale značajnije razlike. (Slika 13.) Istraživanje ukazuje i da IL-6 ne razlučuje adekvatno između infektivnih i neinfektivnih uzroka upalnog zbivanja.(64) Usprkos tome što bi zbog navedenih razloga konvencionalni markeri mogli otežati uvođenje IL-6 u svakodnevnu dijagnostičku praksu, svoje mjesto mogao bi pronaći u dijagnosticiranju neonatalne sepse. Naime, razine prokalcitonina su povišene u prvih 72 sata života te je PCT gotovo neupotrebljiv u tom razdoblju kao marker sepse.(62) IL-6 ovdje nudi dobro rješenje kao dovoljno brz, osjetljiv i specifičan marker za ranu dijagnozu i rani



Slika 13- Plazmatske razine PCT-a i IL-6 u pacijenata koji su pri zaprimanju dijagnosticirani sa SIRS-om, sepsom, teškom sepsom i septičkim šokom. Prema: Harbarth i suradnici (2000.)

početak terapije, što pokazuje i meta-analiza 8 studija koja je ukazala na ukupnu osjetljivost od 85 % i specifičnost od 88 % u dijagnosticiranju neonatalne sepse, time pronalazeći novu ulogu interleukinu 6.(75) Osim toga, IL-6 pokazao se korisnim u procjeni 28-dnevnog mortaliteta u pacijenata sa sepsom i septičnim šokom, a prema nekim autorima u toj funkciji se pokazao boljim od drugih, konvencionalnih markera poput PCT-a.(74)

*Citokinska oluja* pojam je koji još nije dobio adekvatnu definiciju, ali ga se može ugrubo okarakterizirati kao hiperprodukciju proinflamatornih citokina koja rezultira nepovoljnim učincima na organizam u obliku *horror autotoxicus*-a. Pri tome važna je redundancija i pleiotropnost koja općenito karakterizira interleukine pa tako i IL-6.(23,24) Obzirom da su zamijećene trajno povišene razine IL-6 kako u sepsi pa tako i u drugim neinfektivnim upalnim stanjima, razvila se ideja blokiranja njegovih učinaka u nadi da se time može obuzdati štetna upalna reakcija vođena vlastitim mehanizmima organizma. Stoga je razvijeno humanizirano monoklonsko protutijelo pod imenom tocilizumab s prvobitnom idejom primjene u osoba koje boluju od kroničnih bolesti praćenih visokim razinama IL-6 poput reumatoidnog artritisa, juvenilnog idiopatskog artritisa i Castlemanova sindroma. Međutim, zadnjih godina sve više se razmatra mogućnost njegove primjene u osoba koje su razvile SIRS. Opravdanje u tretiranju septičnih pacijenata tocilizumabom pronalazi se u uspjehu sprječavanja CRS-a (prema eng. *Cytokine release syndrome*), stanja koje je u svojoj podlozi slično citokinskoj oluji koja se razvija u sepsi.(76) Točni učinci ove terapije moraju se još istražiti.

## 9.2. INTERLEUKIN 1 (IL-1)

Interleukin 1 je niskomolekularni glikoprotein veličine 17 kDa u zreom obliku te je prvi identificirani interleukin. Radi se o citokinu urođene imunosti odnosno proupalnom citokinu kojeg produciraju makrofagi, endotelne stanice te neke epitelne stanice. IL-1 obuhvaća dvije, ali strukturno i funkcijski slične molekule; IL-1 $\alpha$  koji se nalazi na staničnoj membrani te IL-1 $\beta$  koji se izlučuje u izvanstaničnu tekućinu.(24) Djelovanje mu se očituje na mnogo razina koje se mogu skupno okarakterizirati kao nespecifični odgovor domaćina na infekciju. U hipotalamusu potiče sintezu prostaglandina E2 čime razvija svoje pirogeno djelovanje, stimulira sintezu proteina

akutne faze u jetri, potiče otpuštanje neutrofila iz koštane srži, regrutira i aktivira neutrofile i makrofage, djeluje kao ko-mitogen za proliferaciju i diferencijaciju limfocita T i B te stimulira NK stanice. Nadalje, značajno je njegovo djelovanje u kardiovaskularnom sustavu. Naime, djelovanjem na endotelne stanice povećava otpuštanje prostaglandina, PAF-a i NO što vodi prema povećanoj kapilarnoj propusnosti rezultirajući ekstravazacijom leukocita te povećanim gubitkom tekućine i proteina u ekstravaskularni prostor.(24) Iako navedenim mehanizmima u odmjerenim reakcijama osigurava adekvatnu zaštitu mehanizma, u sepsi kao stanju u kojem simultano djeluje više proinflatornih citokina u suvišku, navedeni mehanizmi vode prema razvoju hipotenzije posljedično smanjenju sustavnog vaskularnog otpora i gubitku cirkulirajućeg volumena, a stanje hipoperfuzije dodatno biva produbljeno miokardijalnom supresijom od strane IL-1 time dovodeći do razvoja septičkog šoka, MODS-a, MOF-a i smrti.(77)

Za razliku od egzogene primjene IL-6 i TNF- $\alpha$ , egzogena primjena IL-1 $\beta$  ne aktivira septični odgovor, stoga se pretpostavlja da IL-1 nije odgovoran za inicijaciju septične kaskade, već njeno održavanje.(77) Ipak, uviđeno je da razine IL-1 direktno koreliraju s težinom septičnog stanja. Homeostatske razine IL-1 u odraslog pojedinca manje su od 1 pg/mL, ali pri ubrizgavanju LPS-a koji je najbolji stimulans indukcije proinflatornih citokina, njegove razine počinju rasti i dosežu svoj vrhunac kroz 3 do 4 sata.(77,78) Zbog brze indukcije IL-1 isproban je kao marker u neonatalnoj sepsi. Kao što je navedeno u poglavlju o IL-6, problematika neonatalne sepse i konvencionalnih markera poput CRP-a ili leukocita je u nedovoljno brzom indukciji istih. Jedini konvencionalni marker koji u odrasloj populaciji ima dovoljno brzu indukciju je PCT, a on je u neonatalnoj sepsi neupotrebljiv.(62) Iako neke studije navode uspješno rano dijagnosticiranje neonatalne sepse uz korištenje IL-1 $\beta$  kao markera(79), druge studije to negiraju. Jedno od istraživanja navodi kako su se drugi citokinski markeri (ponajprije IL-6) pokazali osjetljivijom i specifičnijom opcijom u odnosu na IL-1, čije razine nisu dovoljno porasle u odnosu na druge markere, što se pripisuje nezrelosti imunoloških stanica.(80) Drugo istraživanje u potpunosti negira mogućnost korištenja IL-1 $\beta$  kao adekvatnog biomarkera u dijagnozi kasne novorođenačke sepse.(81)

### 9.3. INTERLEUKIN 8 (IL-8, CXCL 8)

Interleukin 8 je poseban glikoprotein veličine 8-12 kDa koji djeluje kao proupalni citokin, ali njegova glavna funkcija očituje se u kemotaksiji, odnosno radi se o kemokinu kojeg ponajprije luče makrofagi, neutrofili, limfociti T, endotelne stanice, fibroblasti i epitelne stanice poput glatkomišićnih stanica dišnih puteva, hepatocita i keratinocita. Glavna uloga kemokina je privlačenje stanica na mjesta koja su potaknuta upalnim podražajem tkiva, bilo da se radi o infekciji mikroorganizmom ili nekoj drugoj noxi koja oštećuje tkivo.(24) Upalni stimuli mogu biti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , različiti mitogeni, lektini, kristali i virusi. Specifičnost IL-8 u odnosu na ostale kemokine je njegova preferencija da privlači ponajprije neutrofilne leukocite, a značajno manje druge vrste imunskih stanica izuzev aktiviranih eozinofila. Svojim djelovanjem na endotelne stanice te stanice ekstracelularnog matriksa povećava ekspresiju adhezijskih molekula na njihovim membranama, pri čemu se povećava permeabilnost postkapilarnih venula te potiče ekstrasvazacija neutrofila i povećani izlazak plazme iz krvnih žila u okolna tkiva, a u istraživanjima je pokazano da u prisutnosti citohalazina B uzrokuje degranulaciju azurofilnih zrnaca neutrofila koji potom ispuštaju elastazu, mijeloperoksidaze,  $\beta$ -glukuronidazu i ostale hidralaze. Pokusnom intravaskularnom primjenom IL-8 zamijećena je inicijalna teška, ali prolazna granulocitopenija nakon koje slijedi značajna granulocitoza koja perzistira dok su razine IL-8 detektabilne u plazmi, a zamijećena je i marginacija neutrofila u krvnim žilama pluća, jetre i slezene koja nije popraćena njihovom ekstrasvazacijom. Važno je napomenuti da pri intravaskularnoj primjeni ne dolazi do hemodinamskih promjena.(82)

Vrijednosti IL-8 u plazmi u homeostazi manje su od 60 pg/mL, a pri injiciranju endotoksina kreću rasti za 90 minuta i svoj vrhunac dostižu 120 minuta nakon primjene (Slika 14.), dok pri administraciji TNF- $\alpha$  počinju rasti ranije, ali vrhunac i dalje dostižu nakon 120 minuta.(Slika 15.)(83)

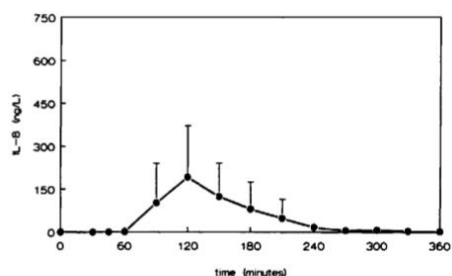


Figure 1. Induction of IL-8 following injection of endotoxin (2 ng/kg). Error bars indicate 1SD.

Slika 14 - Indukcija IL-8 nakon injekcije endotoksina. Prema: van Deventer i suradnici (1993.)

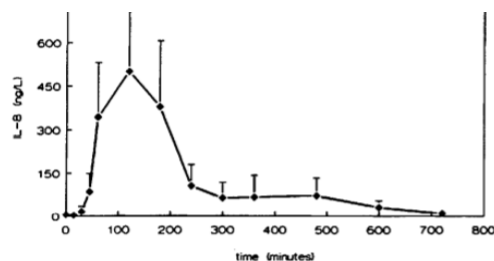


Figure 2. Induction of IL-8 following injection of tumor necrosis factor- $\alpha$  (50  $\mu$ g/m<sup>2</sup>). Error bars indicate 1SD.

Slika 15- Indukcija IL-8 nakon injekcije TNF- $\alpha$ . Prema: van Deventer i suradnici (1993.)

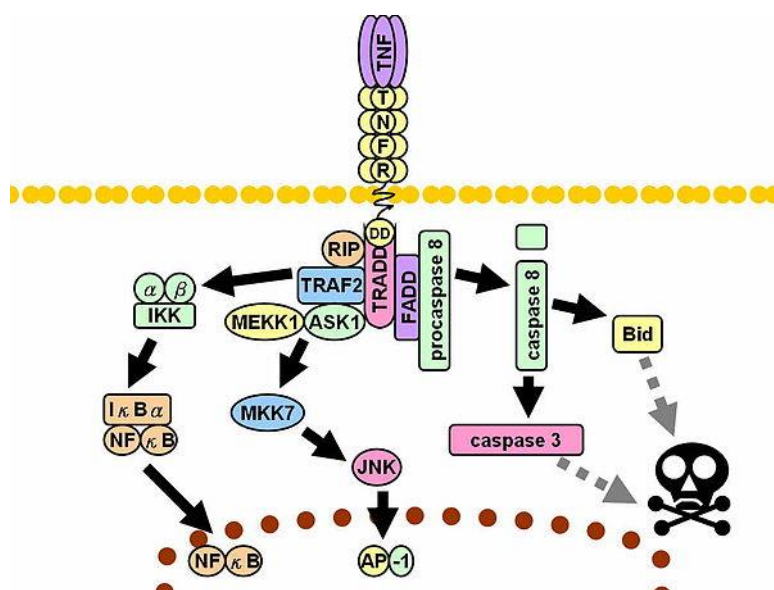
Kao što je prije navedeno, IL-8 nije specifičan marker sepse jer njegovu sekreciju potiču mnogobrojne nokse. Ipak, primjenu je pronašao kao i ostali interleukini u dijagnostici novorođenačke sepse zbog manjkavosti drugih potencijalnih markera. Meta-analiza istraživanja koja su mjerila IL-8 u septične novorođenčadi pokazala je da je IL-8 dobar marker za rapidno postavljanje rane dijagnoze neonatalne sepse. Ukupna osjetljivost iznosila je 78 %, a ukupna specifičnost 84 %. Ipak manjkavost tih istraživanja očituje se u tome što se *cut-off* značajno razlikovao od studije do studije, varirajući čak od 0.65 do 300 pg/mL kao vrijednosti pri kojoj je dijagnosticirana sepsa.(84)

Potrebno je napomenuti da je jedna od mogućnosti u ranom dijagnosticiranju novorođenačke sepse mjerenje biomarkera u krvi iz pupkovine dobivene kordocintezom. U toj ulozi IL-8 je pokazao dobre rezultate i točno diferencirao nedonoščad s infekcijom i onu bez nje. Rezultati su pokazali da je u toj ulozi imao osjetljivost od 81 % i specifičnost od 77 % pri graničnoj vrijednosti od 50.7 pg/mL. Iako je dobro procjenjivao nedonoščad sa sepsom, pokazao se neadekvatnim prilikom diferencijacije septične i neseptične djece rođene u terminu.(85)

Dodatna dijagnostička funkcija IL-8 mogla bi se pronaći u procjeni težine septičnog stanja u smislu postojanja DIK-a i MODS-a. Usporedba drugih citokina i IL-8 u procjeni postojanja MODS-a kojeg definiramo kao zatajenje dva ili više organskih sustava, ukazala je na veću postojanost razina IL-8 pri multiorganskoj disfunkciji. Naime, razine su korelirale s težinom organskih disfunkcija u septičnih pacijenata i to su radile bolje nego razine drugih markera. Postojano povišene razine očitovale su se u akutnoj ozljedi pluća, jetrenom i bubrežnom zatajenju, cerebralnoj disfunkciji, gastrointestinalnom krvarenju i DIK-u.(86) IL-8 pokazao se kao i dobar marker u febrilne neutropenične djece s hematološkim zloćudnim bolestima koja zbog kemoterapijom uzrokovane neutropenije ili osnovne bolesti nisu razvila tipične kliničke prezentacije infekcije. Pri tome je IL-8 s osjetljivošću od 71 % i specifičnošću od 75 % mogao predvidjeti postojanje bakterijemije, bolje nego drugi ispitivani markeri ( CRP i MCP-1, prema eng. *monocyte chemotactic protein 1*)(87)

## 9.4. ČIMBENIK TUMORSKE NEKROZE (TNF- $\alpha$ )

Čimbenik tumorske nekroze (TNF- $\alpha$ , kahektin) osobito je snažan proupalni citokin veličine 17 kDa kojeg ponajprije luče makrofagi te limfociti T, a u cirkulaciji se pronalazi u obliku homotrimerera veličine 51 kDa. Kao i ostali proupalni citokini ima mnogobrojne učinke na tkiva tijekom upalnog odgovora, a njegovu produkciju najjače stimulira LPS. TNF- $\alpha$  aktivira endotel krvnih žila te pojačava izražaj adhezijskih molekula na njima što kemotaktično djeluje na neutrofile i monocite te povećava prianjanje upalnih stanica i njihovu ekstravazaciju kao i pojačani izlazak tekućine u upaljeno područje. Istodobno pojačava prokoagulantno djelovanje endotelnih stanica što pojačava lokalno zgrušavanje krvi. Stimulacijskim djelovanjem na koštanu srž mobilizira neutrofile te dovodi do pojave neutrofilije, a u velikim dozama inhibira eritropoezu i mijelopoezu. Slično ostalim proupalnim citokinima, ima pirogeno djelovanje te potiče sintezu proteina akutne faze, a pri uznapredovalim infekcijama i zloćudnim tumorima uzrokuje lipemiju, anoreksiju i kaheksiju kao posljedicu inhibicije lipoprotein-lipaze. Ipak, jedna od najvažnijih uloga TNF- $\alpha$  koja ga odvaja od ostalih citokina je njegova mogućnost da uzrokuje apoptozu stanica.(24) Vežanjem TNF- $\alpha$  za njegov receptor na membrani stanica koji su povezani s adaptorskim molekulama TRADD i TRAF6 započinje aktivaciju kaspaznih kaskada koje vode prema cijepanju DNA i razaranju staničnih struktura. (Slika 16.)(5)



Slika 16- Višestruki putevi prijenosa signala nakon vezanja TNF- $\alpha$  za receptor tipa 1. Preuzeto s interneta:<https://en.wikipedia.org/wiki/TRAF2> (20.5.2021.)



Slično interleukinu 1, interleukinu 6 i interleukinu 8 njegova dijagnostička aplikacija se ponajprije istraživala u neonatalnoj sepsi zbog vrlo brze indukcije i neadekvatnosti drugih, konvencionalnih markera. Homeostatske vrijednosti TNF- $\alpha$  u odraslih pojedinaca niže su od 2.8 pg/mL, a pri stimulaciji LPS-om počinju rapidno rasti i dostižu maksimalne koncentracije za 60 do 90 minuta.(Slika 12.)(88) Istraživanje na pedijatrijskoj populaciji predlaže graničnu vrijednost od 50 pg/mL za postavljanje dijagnoze sepse. U toj studiji razine TNF- $\alpha$  bile su više u pacijenata kod kojih je hemokulturom dokazana bakterijska infekcija (70 pg/mL u pacijenata s pozitivnom u odnosu na 33 pg/mL u pacijenata s negativnom hemokulturom) te su zabilježene veće vrijednosti pri infekciji uzrokovanoj gram-negativnim uzročnicima u odnosu na gram-pozitivne uzročnike (83 pg/mL vs. 52 pg/mL). Dobiveni rezultati uspoređeni su s mogućnostima CRP-a u predikciji novorođenačke sepse te se TNF- $\alpha$  pokazao osjetljivijim i specifičnijim od CRP-a. (Slika 17.)(89,90) Studija koja je istraživala više interleukinskih markera za ranu dijagnozu sepse, isto tako potvrđuje sposobnost TNF- $\alpha$  da rano omogući postavljanje dijagnoze neonatalne sepse, ali je pri tome identificirala niže vrijednosti u novorođenčadi s postavljenom dijagnozom sepse, medijanom od 21 pg/mL za one s pozitivnom i medijanom od 17 pg/mL za one s negativnom kulturom.(79)

**Table 1.** TNF- $\alpha$  levels in different age groups with culture positive and negative reports.

Age group	Total	Microbiologically documented infection (TNF- $\alpha$ range)	No documented microbial infection (TNF- $\alpha$ range)
Neonates 1-28	25	8 (23 -910 pg/ml)	15 (5-730 pg/ml)
Infants < 1 yr.	22	11 (33 -1870 pg/ml)	9 (10 -1270 pg/ml)
1 – 5 yrs.	21	16 (100-3310 pg/ml)	5 (43 -1675 pg/ml)
> 5 yrs.	15	7 (250-3310 pg/ml)	8 (175-1870 pg/ml)

Slika 17- Vrijednosti TNF- $\alpha$  u pacijenata različitih dobnih skupina i s pozitivnim i negativnim kulturama. Prema: Kumar i Rizvi (2009.)

Potrebno je napomenuti da su u ograničenom broju studija na ovu problematiku dobiveni rezultati koji su često pokazivali drastične razlike u efektivnosti TNF- $\alpha$  kao markera sepse. Meta-analiza istraživanja koja procjenjivala dijagnostičku moć,

rezultirala su ukupnom osjetljivošću TNF-a od 66 % i ukupnom specifičnošću od 76 %, ali su pri tome mjere inkonzistencije bile vrlo visoke (osjetljivost:  $I^2=87.5$  %, specifičnost:  $I^2=88.7$  %) indicirajući na veliku raznolikost u dobivenim rezultatima među studijama.(91)

Korištenje TNF- $\alpha$  u prognostičke svrhe ukazalo je na velike razlike u izmjerenim vrijednostima između pacijenata koji se prezentiraju sa sepsom, ali isto tako i značajne varijacije u dnevno mjenjenim plazmatskim koncentracijama TNF- $\alpha$ . Pri tome, općeniti zaključak je da osobe koje se prezentiraju s težim oblicima sepse i septičkog šoka imaju i više razine čimbenika tumorske nekroze. Isto tako, vrijednosti su više u pacijenata s negativnim ishodom nego u preživjelih.(89) Potrebne su dodatne studije da bi se bolje procijenila dijagnostička i prediktivna moć čimbenika tumorske nekroze.

## 9.5. INTERLEUKIN 10 (IL-10)

Interleukin 10 je homodimer veličine 34 do 40 kDa koji se ubraja u skupinu immunosupresijskih odnosno inhibicijskih citokina te se u svojoj funkciji značajno razlikuje od do sada promotrenih upalnih medijatora. Inhibicijski citokini potiskuju imunoreakcije, što je važno za ograničavanje njihova trajanja i za uspostavu imunotolerancije. Sekreciju IL-10 potiču proinflammatorni citokini IL-12 i IL-27 kao i LPS koji snažno stimuliraju regulatorne limfocite T, makrofage te pri produljenom upalnom odgovoru i neutrofile.(92) Djeluje ponajprije na leukocite suprimirajući ekscesivnu upalnu reakciju, potiskuje sintezu proinflammatornih citokina od strane makrofaga i sintezu  $T_H1$  citokina te na taj način usmjerava imunoreakciju prema humoralnoj imunosti ( $T_H2$ ). (24,28) Nadalje, inhibira membransku ekspresiju MHC II kompleksa kao i ekspresiju B7 kostimulacijske molekule na membrani predočnih stanica te smanjuje prepoznavanje LPS-a i nuklearnu translokaciju NF- $\kappa$ B prilikom stimulacije stanice LPS-om što nazivamo razvojem endotoksinske tolerancije.(28) Navedeni proces, u kojem djelovanje IL-10 čini samo dio cjelokupnog mehanizma, nazivamo reprogramiranjem monocita/makrofaga. Radi se o kaskadi epigenetskih promjena koje osim što rezultiraju smanjenom ekspresijom mRNA koja kodira za proinflammatorne citokine te posljedično smanjenjem njihove proizvodnje, povećanom ekspresijom mRNA antiinflammatornih citokina i njihovom sintezom te isto tako promjenama u staničnom metabolizmu u vidu inhibicije glikolize, oksidativne fosforilacije i oksidacije

masnih kiselina.(17) Ukratko, uloga IL-10 u septičnim stanjima primarno služi ograničavanju trajanja i težine upale odnosno tkivnog oštećenja koje će proizvesti infekcija i posljedični inflamatorni odgovor, ali u sepsi rezultira produljenom i ekscesivnom imunosupresijom koja ostavlja domaćina izloženog dodatnim, nerijetko nozokomijalnim i multirezistentnim patogenima kao i neadekvatnim staničnim metabolizmom vodeći septičnog pacijenta u stanje kaheksije.

Razine IL-10 u plazmi odrasle zdrave osobe su ispod 2 pg/mL. Za razliku od ostalih citokinskih markera koji se mogu koristiti u ranoj dijagnostici sepse, interleukin 10 je bolje upotrebljavati u procjeni težine bolesti i prognoze s obzirom na patofiziološku prirodu septičnog odgovora u kojoj se prvo očituje hiperinflamatorno, a potom imunosupresivno stanje organizma. Posljedično, razine IL-10 rastu sporije i vrhunac dosežu kasnije, ovisno o težini septičkog odgovora.(*Slika 12.*)(93)

Istraživanje Gogos i suradnika mjerilo je razine IL-10, TNF- $\alpha$  te omjer IL-10 i TNF- $\alpha$  u pacijenata koji su se prezentirali sa sepsom i septičkim šokom. Razine oba citokina bile su povišene u septičnih pacijenata te u pacijenata sa septičnim šokom, a razine su korelirale s težinom bolesti te su bile značajno više u pacijenata koji nisu preživjeli. Ista studija pratila je i trend ovih citokina i mjerila razinu nakon 48 sati pri čemu je zamijećeno da se razine IL-10 nisu značajnije smanjile u osoba koje su podlegle bolesti.(94)

Upotreba više citokinskih markera odjednom u procjeni stanja i prognoze mogla bi biti vrlo efektivna metoda obzirom da svaki pokazuje zasebni dio patofiziologije septične reakcije. Primjerice, IL-10 je pokazao dobre rezultate u razlučivanju sepse od septičkog šoka te njegove razine koreliraju s 28-dnevnom smrtnošću, dok vrijednosti IL-8 dobro koreliraju s rizikom razvoja MODS-a i DIK-a.(95) Naznaka imunosupresije može se i očitovati kao povišeni omjer interleukina 10 i broja limfocita te su istraživanja pokazala da se i ova kombinacija može koristiti za procjenu težine sepse.(96)

Istraživanja IL-10 posebno su uzbudljiva zbog mogućnosti njegove utilizacije u terapiji navođenoj biomarkerima.(17) Dosada se terapija septičnih pacijenata ponajprije fokusirala na suzbijanje izvora infekcije i suportivno liječenje koje je pokušavalo održati stanje organizma što sličnije onom homeostatskom. Zbog uspješnosti ovih postupaka kao i povećanog korištenja novih dijagnostičkih metoda, preživljenje pacijenata u sepsi i septičkom šoku se povećalo.(11) Ipak, rezultiralo je s identifikacijom kasnog,

imunosupresivnog odgovora organizma koji je činio pacijenta podložnijim razvoju nove, sekundarne infekcije, nerijetko oportunističkim, nozokomijalnim, multirezistentnim patogenom. Serijsko praćenje IL-10 tijekom boravka u JIL-u moglo bi ponuditi mogućnost ranog prepoznavanja nastupa imunosupresivne faze septičnog odgovora te upotrebe novijih metoda imunoterapije kojom bi se suzbio antiinflamatorni odgovor i osnažio imunitet pojedinca.(17)

## **10. OSTALI MARKERI**

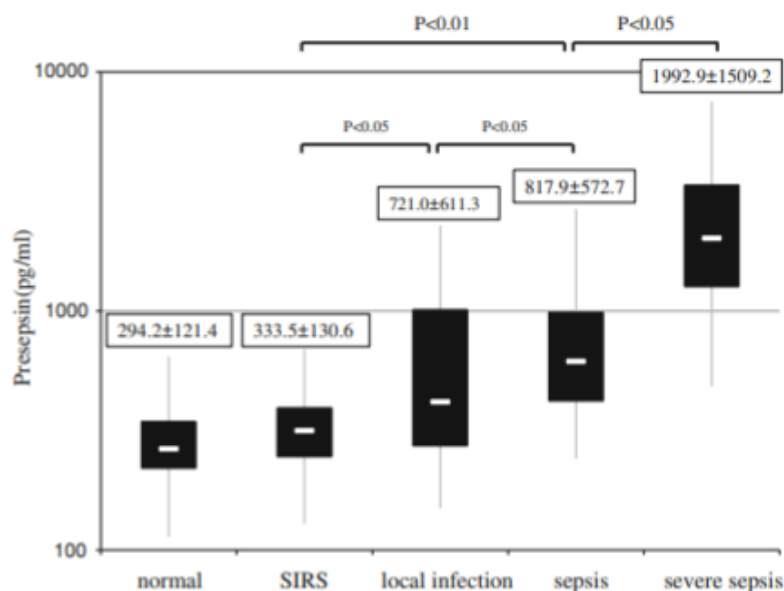
### **10.1. PRESEPSIN (sCD 14-ST)**

Presepsin (sCD 14-ST) je podvrsta topljivog receptora CD 14 (sCD 14) veličine 13 kDa koji nastaje cijepanjem sCD 14 u plazmi od strane katepsina D i drugih proteaza koje se aktiviraju tijekom upalnog odgovora.(5) Uloga CD 14 receptora usko je povezana s proteinom koji veže lipopolisaharid (LBP), odnosno LPS-LBP kompleksom. Naime, CD 14 je glikoproteinski receptor koji veže LPS-LBP kompleks te prenosi signal na TLR 4 dovodeći do pokretanja intracelularne kaskade koja izaziva nuklearnu translokaciju NF- $\kappa$ B i stimulira povećanu produkciju proinflammatoryh citokina (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). (68) Time se produbljuje proinflammatory odgovor imunskog sustava koji može dovesti do razvoja SIRS-a, sepse, septičkog šoka, MODS-a, DIK-a i MOF-a. Pri tome, razlikujemo dvije osnovne podvrste CD 14 receptora, membranski i topljivi. Membranski CD 14 (mCD 14) nalazi se na monocitima/makrofagima i neutrofilima te ima visok afinitet za vezanje LPS-LBP kompleksa, a djeluje kako je prije opisano. S druge strane, topljivi CD 14 nastaje ili „otpadanjem“ mCD 14 sa stanica ili sekrecijom sCD 14 iz monocita i neutrofila, a djelovanjem proteaza nastaje sCD 14-ST fragment te je to podvrsta čiju koncentraciju mjerimo u plazmi i koja bi mogla predstavljati novi marker sepse. Pretpostavlja se da je presepsin zadužen za posredovanje imunskog odgovora na LPS u stanicama koje na svojim membranama ne ekspimiraju CD 14 receptor, poput endotelnih i epitelnih stanica.(97)

Točni referentni interval plazmatskih razina presepsina u zdravih pojedinaca još nije u potpunosti utvrđen. Istraživanje na zdravim pojedincima utvrdilo je granice od 55 do 184 pg/mL, dok druga istraživanja u hospitaliziranih pacijenata koji nisu pokazivali znakove infekcije utvrđuju medijan vrijednosti od 190 pg/mL.(98,99) Prilikom infekcije, vrijednosti počinju rapidno rasti i vrhunac dosežu kroz 4 do 5 sati.(5) Istraživanja su pokazala visoku osjetljivost i specifičnost presepsina pri dijagnostici SIRS-a, sepse i septičkog šoka te ukazala da postoji značajan porast ovisan o težini bolesti. Ipak, još uvijek nije identificiran prag pri kojem bi se sa sigurnošću mogla odrediti sepsa. Neki autori predlažu prag od 600 pg/mL za razlučivanje bakterijske od nebakterijske infekcije i pri tome dobivaju osjetljivost od 87 % i specifičnost od 81 %, dok drugi

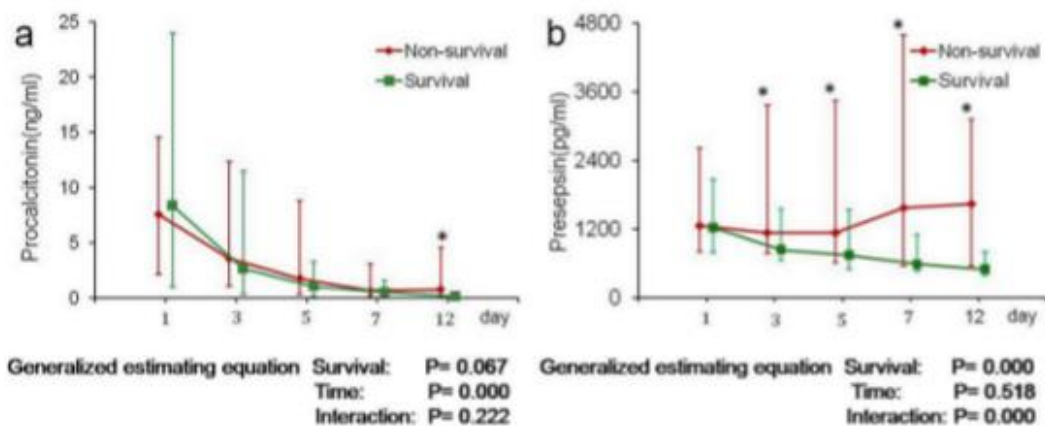
uzimaju niži *cut-off* od 415 pg/mL i pri tome dobivaju osjetljivost od 80 % i specifičnost od 81 %. (99,100) Dakle, iako su potrebna dodatna istraživanja, presepsin daje obećavajuće rezultate kao potencijalni marker sepse zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti.

Korištenje presepsina u procjeni težine bolesti i prognoze također pokazuje obećavajuće rezultate. Iako razine presepsina pri kojima bi se razgraničila sepsa nisu točno definirane, pri teškoj sepsi i septičnom šoku razine značajno rastu i dobro koreliraju s težinom stanja. Istraživanje Shozushime i suradnika pokazalo je rast razina ovisno o težini stanja i vrijednosti veće od 1000 pg/mL pri teškoj sepsi. (Slika 18.)(99) Studija Yua i suradnika pokazala je i dobru povezanost između razina presepsina i moratiliteta mjenenog SOFA upitnikom u čemu se pokazao boljim od PCT-a. Naime, razine PCT-a u ispitivanoj skupini su se snižavale tijekom dana boravka u JIL-u bez obzira na konačni ishod, dok su razine presepsina rasle u skupini pacijenata s konačnim negativnim ishodom, a padale u skupini pacijenata koji su preživjeli tijekom praćenja.(101)(Slika 19.)



**Fig. 1** Comparison of presepsin value in different pathological conditions

Slika 18- Usporedba vrijednosti presepsina u različitim patološkim stanjima. Prema: Shozushima i suradnici (2011.)



**Fig. 3**

*Slika 19- Dinamične promjene razina PCT-a i presepsina ovisno o ishodu. Prema: Yu i suradnici (2017.)*

Presepsin pokazuje nezanemariv potencijal kao budući marker sepse koji prema trenutnim istraživanjima pokazuje bolje i konzistentnije rezultate u odnosu na klasične markere. Ipak, potrebno je napomenuti da kliničari s klasičnim markerima imaju već desetljeća iskustva te pomno konstruirane algoritme za praćenje i liječenje pacijenata prema razinama tih markera te su potrebne još mnogobrojne studije kako bi se presepsin počeo upotrebljavati u kliničkoj praksi, bilo kao samostalni marker ili u kombinaciji s ostalima.

## 10.2. CD64

CD 64, drugim nazivom FcγR1, receptor je za Fc kraj imunoglobulina G (IgG) koji je konstitucionalno eksprimiran u malim količinama na neutrofilima. Obzirom da IgG djeluje kao opsonin, vezanjem Fc kraja imunoglobulina na FcγR1 receptor potiče se fagocitoza, oksidacijska reakcija te produkcija proinflammatoryh citokina i kemotaksina.(102) Iako neutrofili u mirovanju imaju niske razine ekspresije CD64 na svojoj membrani, pri upalnom odgovoru dolazi do aktivacije neutrofila proinflammatoryh citokinima (IFN-γ, IL-6, TNF-α, G-CSF) te se njegove razine povećavaju unutar 4 do 6 sati. U odsutnosti stimulacije neutrofila, ekspresija CD64 počinje se smanjivati nakon 48 sati, a na normalu dopiyeva kroz 7 dana.(103)

S obzirom na to da je porast CD 64 uvjetovan procesima usko povezanim s bakterijskom infekcijom i karakterizira ga brza indukcija te njegove razine opadaju relativno kratko nakon prestanka stimulacije IgG-om ima dobre predispozicije kao potencijalni marker sepse.

Mjerne jedinice u kojima se izražava ekspresija CD 64 još uvijek nisu standardizirane, stoga različite studije koriste drugačije mjerne jedinice, poput CD 64 indeksa, broja CD 64 molekula po neutrofilu, MFI jedinica (prema eng. *median fluorescence intensity*) i MESF (prema eng. *molecules of equivalent soluble fluorochrome*). Usprkos tome, studije koje su ispitivale točnost CD 64 u dijagnostici infekcije i sepse ustanovile su visoke osjetljivosti i specifičnosti. Primjerice, istraživanje na 112 pojedinaca sa suspektnom sepsom pri graničnoj vrijednosti od 2398 CD 64 molekula po neutrofilu pokazalo je osjetljivost od 96 % i specifičnost od 95 %.(104) Studija na većem broju ispitanika, konkretno njih 468, također je dobila slične rezultate pri graničnoj vrijednosti od 230 MFI u vidu visoke osjetljivosti od 89 % i specifičnosti od 87 %. Ista studija naglašava da se kombiniranim korištenjem CD 64 i CRP-a u 92 % slučajeva uspijeva točno dijagnosticirati sepsa, a i točno isključiti u 99 % slučajeva. Istovremeno, utvrđeno je da u pacijenata koji se isprva prezentiraju kao neseptični, povišenje za više od 40 MFI ukazuje na nozokomijalnu infekciju.(105) Ipak, istraživanje CD 64 kao potencijalnog markera novorođenačke sepse nije pokazalo tako jednoznačne rezultate te su se osjetljivost i specifičnost prezentirale u širokom rasponu vrijednosti. Pri tome, srednja vrijednost osjetljivosti iznosila je 77 %, a specifičnosti 74 %.(106)

Premda je CD 64 pokazao dobru korelaciju između povišenih razina i težine bolesti, studije koje su istraživale CD 64 kao marker pomoću kojeg bi se mogla procjenjivati prognoza septičnih pacijenata, rezultirale su podvojenim rezultatima. Jedna studija pronalazi statistički značajnu povezanost između razina CD 64, težine bolesti i mortaliteta mjerenih SOFA i APACHE-II upitnicima te utvrđuje da se mortalitet povećava za 1.30 puta za svakih 1000 molekula porasta u rasponu od 2000 do 12 000 molekula CD 64 po neutrofilu.(107) Međutim, novija studija zamjećuje tendenciju pada vrijednosti CD 64 nakon trećeg dana bolesti i ne pronalazi statistički značajne razlike u razinama tog markera u preživjelih i umrlih osoba u 28-dnevnom periodu praćenja. Autori pripisuju fenomen pada vrijednosti anti-inflamatornom odgovoru koji se razvija u kasnijim stadijima sepse i koji suprimira ekspresiju gena koji kodiraju za



proinflammatorne citokine i posljedično smanjuje aktivaciju neutrofila i ekspresiju CD 64.(103)

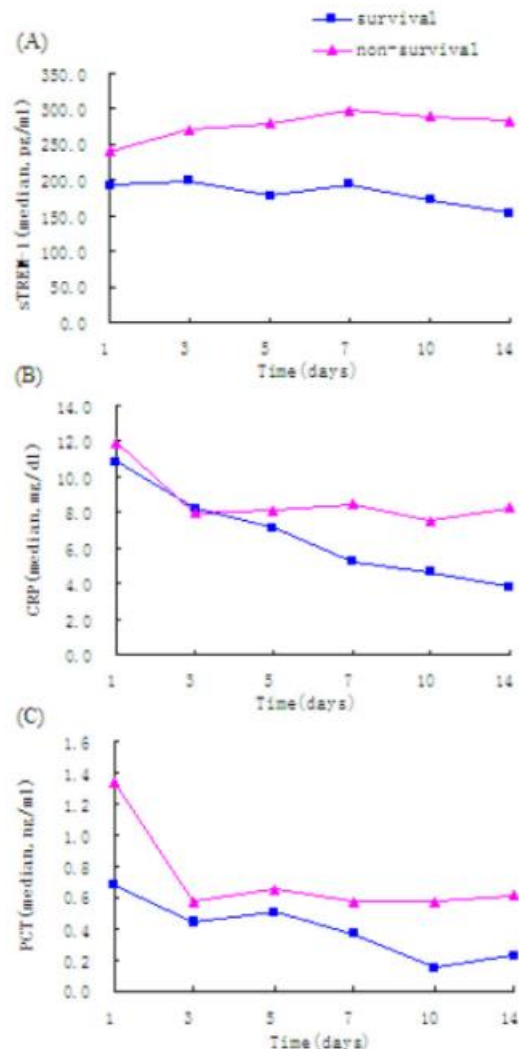
CD 64 je obećavajući marker koji demonstrira visoke osjetljivosti i specifičnosti kao i dobru korelaciju s težinom bolesti, ali se njegovi točni učinci i limitacije moraju još dodatno procijeniti te su stoga potrebna dodatna istraživanja na ovu temu.

### 10.3. sTREM-1

TREM-1 (prema eng. *triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) receptor je koji pripada imunoglobulinskoj superobitelji i eksprimiraju ga polimofronukleari i zreli monociti te sudjeluje u odgovoru urođene imunosti na gram-pozitivne, gram-negativne bakterije i gljivične uzročnike.(5) Stimulacija TREM-1 receptora potiče aktivaciju intracelularnih puteva koji vode prema mobilizaciji kalcijevih iona, preslagivanju aktinskog citoskeltea i aktivaciji NF- $\kappa$ B što posljedično uzrokuje produkciju i sekreciju metaloproteinaza, proinflammatornih citokina i kemotaksina te degranulaciju neutrofila. Iako ligand ovog receptora još nije poznat, zna se da aktivacija TREM-1 u prisutnosti TLR 2 i TLR 4 receptora dovodi do povećane ekspresije TREM-1 na mijeloidnim stanicama. sTREM-1 (prema eng. *soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) potencijalni je biomarker koji nastaje cijepanjem transmembranske domene TREM-1 receptora te se može mjeriti u koži, tjelesnim tekućinama i inficiranim tkivima.(108)

Prva istraživanja prikazala su sTREM-1 kao izvrstan marker sepse koji je već pri niskim graničnim vrijednostima pokazao vrlo visoke osjetljivosti i specifičnosti u razlikovanju sepse i SIRS-a neinfektivne etiologije.(109) Ipak, obećavajuće inicijalne rezultate opovrgnulo je nekoliko studija do sada.(110–112) Najkompletnija od njih do sada, meta-analiza 11 istraživanja koja su promatrala uspješnost sTREM-1 u dijagnostici sepse rezultirala su prosječnom osjetljivošću od 79 % i specifičnošću od 80 %.(112) sTREM-1, naizgled nije marker krajnje specifičan za infektivna stanja već njegove razine rastu posljedično nespecifičnom upalnom odgovoru, ali podatci o toj teoriji su još uvijek manjkavi s obzirom na to da i dalje nije poznat njegov specifični ligand.(108)

Unatoč neobećavajućim rezultatima u pokušajima razlikovanja sepse od neinfektivnog SIRS-a, njegova upotreba u procjeni težine bolesti i prognoze pokazala je bolje rezultate. Općenito, razine sTREM-1 u osoba koje su preživjele sepsu imale su negativni trend u odnosu na osobe koje su umrle od komplikacija sepse.(108) Štoviše, jedna studija navodi da su razine sTREM-1 bolje odražavale težinu bolesti od CRP-a i PCT-a te bile osjetljivije u dinamičnoj procjeni 28-dnevnog mortaliteta. Razine CRP-a i PCT-a nisu se značajnije razlikovale i imale su tendenciju pada u obje promatrane skupine dok su razine sTREM-1 padale u osoba koje su preživjele 28-dnevni period, a rastle u osoba koje su na kraju podlegle bolesti.(113) (Slika 20.)



Slika 20- Serumske razine PCT-a, CRP-a i sTREM-1 mjerene tijekom 14 dana u pacijenata sa sepsom. Prema: Zhang i suradnici (2011.)

## **11. BUDUĆNOST MARKERA SEPSE**

Do danas se upotreba markera fokusirala na postavljanje dijagnoze sepse, razlikovanje infektivnih od neinfektivnih procesa, procjenu težine stanja i prognoze te eventualno navođenje liječenja na temelju njihovih trendova. Iako su markeri obrađeni u ovome radu pronašli veću ili manju ulogu u ovim procesima, ni jedan nije uspio dati zadovoljavajuće rezultate u svim segmentima. Općenita je karakteristika ovih laboratorijskih testova da imaju zadovoljavajuće osjetljivosti, ali neadekvatne specifičnosti.(5) Drugim riječima, današnji markeri mogu dobro prepoznati sepsu ukoliko ona postoji, ali ne mogu je isključiti s dovoljnom pouzdanošću ukoliko je uzrok neko drugo stanje koje uzrokuje jaku imunološko-metaboličku reakciju. Esencijalni je problem što ljudski organizam koristi pleotropne i redundante mehanizme pri reakciji na stres bilo da je on uzrokovan infektivnom, traumatskom ili nekom drugom etiologijom. Stoga se smatra da će se budućnost markera sepse pronaći ponajprije u ispravnom korištenju prave kombinacije nekoliko markera čime će se prevladati nedostatak specifičnosti pojedinog markera.(4) Točna kombinacija još nije pronađena. Potrebno je i napomenuti da paralelna upotreba sustava za objektivnu procjenu težine stanja pacijenata, poput *SOFA score-a* ili *APACHE* sustava, može pridonijeti boljem tumačenju vrijednosti i trendova potencijalnih markera te rezultirati boljim kratkoročnim i dugoročnim ishodima, smanjenjem nuspojava i rezistencije na antibiotike, smanjenim troškovima liječenja kao i kraćim trajanjem hospitalizacije i boravka u JIL-u.(4,5)

Postoji mogućnost da budući markeri sepse neće biti nalik konvencionalnima već će biti strogo orijentirani prema pojedincu. U zadnjih dvadesetak godina, saznalo se puno o ljudskom genomu te se sve više saznaje o genetskim polimorfizmima koji sudjeluju u razvoju stečene imunosti i produkciji citokina.(114) Istraživanje genetske predispozicije mogao bi biti ključan korak u razvoju personalizirane medicine septičnih pacijenata i optimalnom prilagođavanju terapije, ali isto tako bi mogao ponuditi i predznanje o povećanim rizicima razvoja sepse i nepovoljnih ishoda u pojedinog pacijenta godinama i desetljećima prije nego razvije sepsu time otvarajući put prema prevenciji navedenog stanja.(114)

## **12. ZAKLJUČAK**

Markere sepse možemo definirati kao bilo koju tvar, strukturu ili proces koji se može izmjeriti u tijelu ili njegovim proizvodima te utjecati ili predvidjeti incidenciju ishoda ili bolesti. Pri tome, postoje tri osnovne aplikacije u kojima se oni mogu koristiti. Prva aplikacija je potvrda ili isključivanje septičnog stanja, druga procjena težine stanja i prognoze bolesti, a treća navođenje terapije septičnih pacijenata. U ovome radu, podijeljeni su u četiri velike skupine, počevši od hematoloških markera koje čine brzina sedimentacije eritrocita, leukociti koje se može promatrati na više načina uključujući njihov ukupni broj, fenomen skretanja u lijevo i omjera broja neutrofila i limfocita te je u ovu skupinu još uključena i razina laktata. Sljedeću skupinu predstavljaju reaktanti akutne faze čije vrijednosti rastu posljedično akutnofaznom odgovoru i čine ju CRP, PCT i LBP, a karakterizira ih dugogodišnja uspješna primjena u kliničkom okruženju. Skupina citokinskih markera, široka je podskupina koja svoju ulogu uglavnom pronalazi u dijagnostici novorođenačke sepse zbog svoje brze indukcije, a u toj skupini iskače IL-10 koji se po svojoj funkciji razlikuje od ostalih citokina ponajprije u tome što je anti-inflamatorni citokin čiji je porast povezan s imunosupresivnom fazom septičnog odgovora. Zadnja skupina preostalih markera, uglavnom se sastoji od biomarkera koji su identificirani u zadnjih dvadesetak godina posljedično novim spoznajama u patofiziološkim zbivanjima koja se odvijaju u sepsi.

Kada se procjenjuje uspješnost navedenih markera, mora se u obzir uzeti da nijedan marker nije savršen te su bitne okolnosti u kojima se on tumači. Primjerice, PCT se pokazao kao ponajbolji konvencionalni marker koji dobro procjenjuje postojanje sepse, težinu bolesti i prognozu te su na temelju njegovih razina konstruirani algoritmi terapije, ali mu se glavni nedostatak očituje u manjku specifičnosti kao i nemogućnosti korištenja pri dijagnostici novorođenačke sepse zbog konstitucionalno povišenih razina u toj dobi. Iz tog razloga se pri dijagnosticiranju neonatalne sepse odgovor nastoji pronaći u citokinskim markerima, ali njihova upotreba u odraslih pacijenata vjerojatno neće zaživjeti u skorije vrijeme zbog adekvatnosti drugih markera u tom području. Marker će uvijek ostati samo alat koji će amplificirati sposobnosti kliničara koje će se uvijek temeljiti na znanju i iskustvu, a konkretna skorija budućnost markera vjerojatno će se pronaći u korištenju prave kombinacije markera koja će podići specifičnost dijagnostičkog postupka.

## **ZAHVALE**

Prije svega, htio bih se zahvaliti prof. dr. sc. Slobodanu Mihaljeviću na mentorstvu i podršci pri stvaranju ovoga rada.

Mojim roditeljima, sestri Pauli, baki Vesni i ostalim članovima obitelji na osloncu koji su pružali ...

Prijateljima, kolegicama i kolegama koji su bili vjerni suputnici na našem zajedničkom i krivudavom putovanju ...

Mojoj djevojci Sanji, na svim ovim godinama strpljenja, razumijevanja i ljubavi ...

Hvala vam,  
bez vas bi bilo nemoguće.  
Vaš Filip

## **LITERATURA**

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801–10.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001 Jul;29(7):1303–10.
3. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020 Jan 18;395(10219):200–11.
4. Biron BM, Ayala A, Lomas-Neira JL. Biomarkers for Sepsis: What Is and What Might Be? *Biomark Insights*. 2015 Sep 15;10(Suppl 4):7–17.
5. Wiersinga WJ, Seymour CW, editors. *Handbook of Sepsis* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cited 2021 May 26]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-73506-1>
6. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992 Jun;20(6):864–74.
7. Pinson R. Sepsis-3: The world turned upside down [Internet]. [cited 2021 May 26]. Available from: <https://acphospitalist.org/archives/2016/03/coding-sepsis-confusing-part-2.htm>
8. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock. *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):775–87.
9. Murray C, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman A, Michaud C, et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2012 Dec 15;380:2197–223.
10. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Feb 1;193(3):259–72.
11. Kadri SS, Rhee C, Strich JR, Morales MK, Hohmann S, Menchaca J, et al. Estimating Ten-Year Trends in Septic Shock Incidence and Mortality in United States Academic Medical Centers Using Clinical Data. *Chest*. 2017 Feb;151(2):278–85.
12. Danai PA, Sinha S, Moss M, Haber MJ, Martin GS. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Crit Care Med*. 2007 Feb;35(2):410–5.
13. Page DB, Donnelly JP, Wang HE. Community-, Healthcare- and Hospital-Acquired Severe Sepsis Hospitalizations in the University HealthSystem Consortium. *Crit Care Med*. 2015 Sep;43(9):1945–51.

14. Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study\*: *Critical Care Medicine*. 2006 Feb;34(2):344–53.
15. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Feb;193(3):259–72.
16. Prescott HC, Osterholzer JJ, Langa KM, Angus DC, Iwashyna TJ. Late mortality after sepsis: propensity matched cohort study. *BMJ [Internet]*. 2016 May 17 [cited 2021 May 27];353. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4869794/>
17. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2013 Dec;13(12):862–74.
18. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA*. 2010 Oct 27;304(16):1787–94.
19. Rabiee A, Nikayin S, Hashem MD, Huang M, Dinglas VD, Bienvenu OJ, et al. Depressive symptoms after critical illness: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med*. 2016 Sep;44(9):1744–53.
20. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. 2017 Jul;17(7):407–20.
21. Zumla A. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. *Lancet Infect Dis*. 2010 May;10(5):303–4.
22. van der Poll T, Opal SM. Host–pathogen interactions in sepsis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2008 Jan;8(1):32–43.
23. Kovač Z GS. Patofiziologija, Knjiga prva. 8th ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
24. Andreis I 1937-, Taradi Milan. Imunologija. 7., obnovljeno i dopunjeno izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. (Biblioteka Sveučilišni udžbenici / Medicinska naklada).
25. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research*. 2017 Jan;149:38–44.
26. Opal SM, Poll T van der. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *Journal of Internal Medicine*. 2015;277(3):277–93.
27. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Orfanidou A, Roussos C, Christopoulou-Kokkinou V, Zakynthinos S. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med*. 2000 Feb;28(2):451–7.
28. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000 Apr;117(4):1162–72.
29. Dragan Lepur i suradnici. Infektologija. Zagreb: NAKLADA SLAP; 2018. 448 p.
30. Disorders causing critical illness | Davidson's Principles and Practice... [Internet]. [cited 2021 May 31]. Available from: <https://studentconsult.inkling.com/read/ralston-davidsons-principles-practice-medicine-23e/chapter-10/disorders-causing-critical#3fe13510c6cf47ab86c53c2a7756a0b5>

31. Presenting problems in blood disease | Davidson's Principles and... [Internet]. [cited 2021 May 31]. Available from: <https://studentconsult.inkling.com/read/ralston-davidsons-principles-practice-medicine-23e/chapter-23/presenting-problems-in-blood#81fe88ad51c947139b374f849c21c5b7>
32. Acute kidney injury | Davidson's Principles and Practice of Medicine [Internet]. [cited 2021 May 31]. Available from: <https://studentconsult.inkling.com/read/ralston-davidsons-principles-practice-medicine-23e/chapter-15/acute-kidney-injury>
33. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock\*: *Critical Care Medicine*. 2006 Jun;34(6):1589–96.
34. Webster NR. *Oxford Handbook of Critical Care*. *British Journal of Anaesthesia*. 2009 Dec;103(6):907.
35. Vincent J-L, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure: On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine (see contributors to the project in the appendix). *Intensive Care Med*. 1996 Jul;22(7):707–10.
36. Jones AE, Trzeciak S, Kline JA. The Sequential Organ Failure Assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation. *Crit Care Med*. 2009 May;37(5):1649–54.
37. APACHE II Score [Internet]. MDCalc. [cited 2021 Jun 2]. Available from: <https://www.mdcalc.com/apache-ii-score>
38. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock. *Chest*. 2009 Nov 1;136(5):1237–48.
39. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Critical Care Medicine*. 2017 Mar;45(3):486–552.
40. Strimbu K, Tavel JA. What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010 Nov;5(6):463–6.
41. Niehues T. C-reactive protein and other biomarkers—the sense and non-sense of using inflammation biomarkers for the diagnosis of severe bacterial infection<sup>1</sup>. *LymphoSign Journal* [Internet]. 2018 Apr 15 [cited 2021 May 15]; Available from: <https://lymphosign.com/doi/abs/10.14785/lymphosign-2018-0001>
42. Niehues T. C-reaktives Protein und andere immunologische Biomarker: Sinn und Unsinn in der Infektionsdiagnostik. *Monatsschr Kinderheilkd*. 2017 Jul;165(7):560–71.
43. Litao MKS, Kamat D. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-Reactive Protein: How Best to Use Them in Clinical Practice. *Pediatr Ann*. 2014 Oct;43(10):417–20.
44. Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ, et al. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements and Their Relevance in Clinical Medicine. 2016;115(6):6.



45. Markanday A. Acute Phase Reactants in Infections: Evidence-Based Review and a Guide for Clinicians. *Open Forum Infectious Diseases*. 2015 Sep 1;2(3):ofv098.
46. Jekarl DW, Lee S, Kim M, Kim Y, Woo SH, Lee WJ. Procalcitonin as a prognostic marker for sepsis based on SEPSIS-3. *J Clin Lab Anal* [Internet]. 2019 Aug 16 [cited 2021 May 24];33(9). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6868407/>
47. Barati M, Alinejad F, Bahar MA, Tabrisi MS, Shamshiri AR, Bodouhi N, et al. Comparison of WBC, ESR, CRP and PCT serum levels in septic and non-septic burn cases. *Burns*. 2008 Sep;34(6):770–4.
48. Farkas JD. The complete blood count to diagnose septic shock. *J Thorac Dis*. 2020 Feb;12(Suppl 1):S16–21.
49. Zheng N, Zhu D, Han Y. Procalcitonin and C-reactive protein perform better than the neutrophil/lymphocyte count ratio in evaluating hospital acquired pneumonia. *BMC Pulm Med*. 2020 Jun 11;20(1):166.
50. Ljungström L, Pernestig A-K, Jacobsson G, Andersson R, Usener B, Tilevik D. Diagnostic accuracy of procalcitonin, neutrophil-lymphocyte count ratio, C-reactive protein, and lactate in patients with suspected bacterial sepsis. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181704.
51. Bakker J, Postelnicu R, Mukherjee V. Lactate. *Critical Care Clinics*. 2020 Jan;36(1):115–24.
52. Gulhar R, Ashraf MA, Jialal I. Physiology, Acute Phase Reactants. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 May 23]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519570/>
53. Gabay C, Kushner I. Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. Epstein FH, editor. *N Engl J Med*. 1999 Feb 11;340(6):448–54.
54. Ansar W, Ghosh S. C-reactive protein and the biology of disease. *Immunol Res*. 2013 May;56(1):131–42.
55. Jeong S, Park Y, Cho Y, Kim H-S. Diagnostic utilities of procalcitonin and C-reactive protein for the prediction of bacteremia determined by blood culture. *Clinica Chimica Acta*. 2012 Nov;413(21–22):1731–6.
56. Liu HH, Zhang MW, Guo JB, Li J, Su L. Procalcitonin and C-reactive protein in early diagnosis of sepsis caused by either Gram-negative or Gram-positive bacteria. *Ir J Med Sci*. 2017 Feb;186(1):207–12.
57. Krüger S, Ewig S, Papassotiriou J, Kunde J, Marre R, von Baum H, et al. Inflammatory parameters predict etiologic patterns but do not allow for individual prediction of etiology in patients with CAP – Results from the German competence network CAPNETZ. *Respir Res*. 2009;10(1):65.
58. Bruns AHW, Oosterheert JJ, Hak E, Hoepelman AIM. Usefulness of consecutive C-reactive protein measurements in follow-up of severe community-acquired pneumonia. *European Respiratory Journal*. 2008 Sep 1;32(3):726–32.
59. Coelho L, Póvoa P, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. Usefulness of C-reactive protein in monitoring the severe community-acquired pneumonia clinical course. *Crit Care*. 2007;11(4):R92.

60. Shiferaw B. The Role of Procalcitonin as a Biomarker in Sepsis. *J Infect Dis Epidemiol* [Internet]. 2016 Apr 30 [cited 2021 May 15];2(1). Available from: <https://clinmedjournals.org/articles/jide/journal-of-infectious-diseases-and-epidemiology-jide-2-006.php?jid=jide>
61. Hamade B, Huang DT. Procalcitonin. *Critical Care Clinics*. 2020 Jan;36(1):23–40.
62. PCT - Clinical: Procalcitonin, Serum [Internet]. [cited 2021 May 16]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/83169>
63. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013 May;13(5):426–35.
64. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic Value of Procalcitonin, Interleukin-6, and Interleukin-8 in Critically Ill Patients Admitted with Suspected Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug;164(3):396–402.
65. Schuetz P. Procalcitonin Algorithms for Antibiotic Therapy Decisions: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials and Recommendations for Clinical Algorithms. *Arch Intern Med*. 2011 Aug 8;171(15):1322.
66. Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock – a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2013;17(6):R291.
67. Pridmore AC, Wyllie DH, Abdillahi F, Steeghs L, van der Ley P, Dower SK, et al. A Lipopolysaccharide-Deficient Mutant of *Neisseria meningitidis* Elicits Attenuated Cytokine Release by Human Macrophages and Signals via Toll-like Receptor (TLR) 2 but Not via TLR4/MD2. *J INFECT DIS*. 2001 Jan;183(1):89–96.
68. Opal SM. Endotoxins and Other Sepsis Triggers. In: Ronco C, Piccinni P, Rosner MH, editors. *Contributions to Nephrology* [Internet]. Basel: KARGER; 2010 [cited 2021 May 22]. p. 14–24. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/315915>
69. Schumann RR, Latz E. Lipopolysaccharide-Binding Protein. In: Jack RS, editor. *Chemical Immunology and Allergy* [Internet]. Basel: KARGER; 1999 [cited 2021 May 22]. p. 42–60. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/58760>
70. Meynaar IA, Droog W, Batstra M, Vreede R, Herbrink P. In Critically Ill Patients, Serum Procalcitonin Is More Useful in Differentiating between Sepsis and SIRS than CRP, IL-6, or LBP. *Critical Care Research and Practice*. 2011;2011:1–6.
71. Prucha M, Herold I, Zazula R, Dubska L, Dostal M, Hildebrand T, et al. Significance of lipopolysaccharide-binding protein (an acute phase protein) in monitoring critically ill patients. *Crit Care*. 2003;7(6):R154–9.
72. Delanghe JR, Speeckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clinica Chimica Acta*. 2015 Dec;451:46–64.
73. IL6 - Clinical: Interleukin 6, Plasma [Internet]. [cited 2021 May 18]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/63020>

74. Song J, Park DW, Moon S, Cho H-J, Park JH, Seok H, et al. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2019 Nov 12;19(1):968.
75. Qiu X, Zhang L, Tong Y, Qu Y, Wang H, Mu D. Interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis with premature rupture of the membranes: A meta-analysis. *Medicine.* 2018 Nov;97(47):e13146.
76. Kang S, Tanaka T, Masuda K, Kishimoto T. Implications of IL-6 Targeting Therapy for Sepsis. *Immunotherapy* [Internet]. 2017 [cited 2021 May 19];03(02). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/implications-of-il6-targeting-therapy-for-sepsis-2471-9552-1000138.php?aid=88943>
77. Pruitt JH, Copeland EM, Moldawer LL. INTERLEUKIN-1 AND INTERLEUKIN-1 ANTAGONISM IN SEPSIS, SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME, AND SEPTIC SHOCK: Shock. 1995 Apr;3(4):235–51.
78. FINTB - Clinical: Interleukin 1-Beta [Internet]. [cited 2021 May 19]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/91719>
79. Kurt ANC, Aygun AD, Godekmerdan A, Kurt A, Dogan Y, Yilmaz E. Serum IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  Levels in Early Diagnosis and Management of Neonatal Sepsis. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2007 [cited 2021 May 18];2007. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2220039/>
80. Bersani I, Auriti C, Ronchetti MP, Prencipe G, Gazzolo D, Dotta A. Use of Early Biomarkers in Neonatal Brain Damage and Sepsis: State of the Art and Future Perspectives. *BioMed Research International.* 2015 Jan 18;2015:e253520.
81. Uçar B, Yildiz B, Aksit M, Yazar C, Colak O, Akbay Y, et al. Serum Amyloid A, Procalcitonin, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , and Interleukin-1 $\beta$  Levels in Neonatal Late-Onset Sepsis. *Mediators of inflammation.* 2008 Feb 1;2008:737141.
82. Hébert CA, Baker JB. Interleukin-8: A Review. *Cancer Investigation.* 1993 Jan;11(6):743–50.
83. van Deventer SJH, Hart M, van der Poll T, Hack CE, Aarden LA. Endotoxin and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -Induced Interleukin-8 Release in Humans. *J Infect Dis.* 1993 Feb;167(2):461–4.
84. Zhou M, Cheng S, Yu J, Lu Q. Interleukin-8 for Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Meta-Analysis. Ding Q, editor. *PLoS ONE.* 2015 May 21;10(5):e0127170.
85. Døllner H, Vatten L, Linnebo I, Zanussi GF, Lærdal Å, Austgulen R. Inflammatory Mediators in Umbilical Plasma from Neonates Who Develop Early-Onset Sepsis. *Neonatology.* 2001;80(1):41–7.
86. Fujishima S, Sasaki J, Shinozawa Y, Takuma K, Kimura H, Suzuki M, et al. Serum MIP-1 alpha and IL-8 in septic patients. *Intensive Care Med.* 1996 Nov;22(11):1169–75.
87. El-Maghraby SM, Moneer MM, Ismail MM, Shalaby LM, El-Mahallawy HA. The diagnostic value of C-reactive protein, interleukin-8, and monocyte chemotactic protein in risk stratification of febrile neutropenic children with hematologic malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007 Mar;29(3):131–6.

88. Koch RM, Kox M, Thijs EJM, Rahamat-Langendoen JC, van de Veerdonk FL, Gerretsen J, et al. Development of Endotoxin Tolerance Does Not Influence the Response to a Challenge with the Mucosal Live-Attenuated Influenza Vaccine in Humans In Vivo. *Front Immunol*. 2017 Dec 11;8:1600.
89. Kumar S, Rizvi M. Serum tumor necrosis factor alpha and C-reactive protein in pediatric patients with sepsis and its correlation with microbiologic findings. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010 Sep;53(3):494–7.
90. Kumar S, Rizvi M. Prognostic serum tumor necrosis factor-alpha in paediatric patients with sepsis. *J Infect Dev Ctries*. 2009 Jul 1;3(6):437–41.
91. Lv B, Huang J, Yuan H, Yan W, Hu G, Wang J. Tumor necrosis factor- $\alpha$  as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a meta-analysis. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:471463.
92. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and Functions of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease. *Annu Rev Immunol*. 2011 Apr 23;29(1):71–109.
93. FIL1S - Clinical: Interleukin-10 (IL-10) Serum [Internet]. [cited 2021 May 21]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/57534>
94. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus Anti-inflammatory Cytokine Profile in Patients with Severe Sepsis: A Marker for Prognosis and Future Therapeutic Options. *J INFECT DIS*. 2000 Jan;181(1):176–80.
95. Andaluz-Ojeda D, Bobillo F, Iglesias V, Almansa R, Rico L, Gandía F, et al. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine*. 2012 Mar;57(3):332–6.
96. Li X, Xu Z, Pang X, Huang Y, Yang B, Yang Y, et al. Interleukin-10/lymphocyte ratio predicts mortality in severe septic patients. Lazzeri C, editor. *PLoS ONE*. 2017 Jun 19;12(6):e0179050.
97. Zou Q, Wen W, Zhang X. Presepsin as a novel sepsis biomarker. *World J Emerg Med*. 2014;5(1):16–9.
98. Giavarina D, Carta M. Determination of reference interval for presepsin, an early marker for sepsis. *Biochem Med (Zagreb)*. 2015 Feb 15;25(1):64–8.
99. Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Endo S, Okamura Y. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2011;17(6):764–9.
100. Ulla M, Pizzolato E, Lucchiari M, Loiacono M, Soardo F, Forno D, et al. Diagnostic and prognostic value of presepsin in the management of sepsis in the emergency department: a multicenter prospective study. *Critical Care*. 2013 Jul 30;17(4):R168.
101. Yu H, Qi Z, Hang C, Fang Y, Shao R, Li C. Evaluating the value of dynamic procalcitonin and presepsin measurements for patients with severe sepsis. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2017 Jun;35(6):835–41.
102. Patnaik R, Azim A, Agarwal V. Neutrophil CD64 a Diagnostic and Prognostic Marker of Sepsis in Adult Critically Ill Patients: A Brief Review. *Indian J Crit Care Med*. 2020 Dec;24(12):1242–50.

103. de Jong E, de Lange DW, Beishuizen A, van de Ven PM, Girbes ARJ, Huisman A. Neutrophil CD64 expression as a longitudinal biomarker for severe disease and acute infection in critically ill patients. *Int Jnl Lab Hem*. 2016 Oct;38(5):576–84.
104. Cardelli P, Ferraironi M, Amodeo R, Tabacco F, De Blasi RA, Nicoletti M, et al. Evaluation of neutrophil CD64 expression and procalcitonin as useful markers in early diagnosis of sepsis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008 Mar;21(1):43–9.
105. Dimoula A, Pradier O, Kassengera Z, Dalcomune D, Turkan H, Vincent J-L. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2014 Mar 15;58(6):820–9.
106. Shi J, Tang J, Chen D. Meta-analysis of diagnostic accuracy of neutrophil CD64 for neonatal sepsis. *Ital J Pediatr [Internet]*. 2016 Jun 7 [cited 2021 May 25];42. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4897921/>
107. Livaditi O, Kotanidou A, Psarra A, Dimopoulou I, Sotiropoulou C, Augustatou K, et al. Neutrophil CD64 expression and serum IL-8: Sensitive early markers of severity and outcome in sepsis. *Cytokine*. 2006 Dec;36(5–6):283–90.
108. Lemarié J, Gibot S. Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1. *Critical Care Clinics*. 2020 Jan;36(1):41–54.
109. Gibot S, Kolopp-Sarda M-N, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med*. 2004 Jul 6;141(1):9–15.
110. Barati M, Bashar FR, Shahrami R, Zadeh MHJ, Taher MT, Nojomi M. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and the diagnosis of sepsis. *Journal of Critical Care*. 2010 Jun 1;25(2):362.e1-362.e6.
111. Latour-Pérez J, Alcalá-López A, García-García M-Á, Sánchez-Hernández JF, Abad-Terrado C, Viedma-Contreras JA, et al. Diagnostic accuracy of sTREM-1 to identify infection in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Clinical Biochemistry*. 2010 Jun 1;43(9):720–4.
112. Wu Y, Wang F, Fan X, Bao R, Bo L, Li J, et al. Accuracy of plasma sTREM-1 for sepsis diagnosis in systemic inflammatory patients: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*. 2012 Nov 29;16(6):R229.
113. Zhang J, She D, Feng D, Jia Y, Xie L. Dynamic changes of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) reflect sepsis severity and can predict prognosis: a prospective study. *BMC Infect Dis*. 2011 Mar 1;11:53.
114. Prucha M, Bellingan G, Zazula R. Sepsis biomarkers. *Clinica Chimica Acta*. 2015 Feb;440:97–103.

## **ŽIVOTOPIS**

**Ime i prezime :** Filip Žigman

**Datum rođenja :** 06.05.1996.

**Mjesto rođenja :** Zagreb

### **OBRAZOVANJE :**

**2015.-** Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

**2011.-2015.** – Gimnazija Petra Preradovića, Virovitica, opći smjer

**2005.-2011.** – Osnovna škola Ivane Brlić Mažuranić, Virovitica

**2003.-2005.** – Osnovna škola Ivana Filipovića, Zagreb

### **NAGRADE**

Dekanova nagrada za postignuti uspjeh u akademskoj godini 2018./19.

### **IZVANNASTAVNE AKTIVNOSTI**

Aktivni član Studentske sekcije za anesteziologiju

StEPP „Edukacija za niže godine“

### **VJEŠTINE**

Aktivna upotreba engleskog jezika

Položena A2 razina njemačkog jezika

Korištenje programskog paketa Office