

Doprinos presepsina, prokalcitonina i C-reaktivnog proteina SOFA sustavu bodovanja u ranom postavljanju dijagnoze sepse

Fressl Juroš, Gordana

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:446049>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Gordana Fressl Juroš

**DOPRINOS PRESEPSINA,
PROKALCITONINA I
C-REAKTIVNOG PROTEINA
SOFA SUSTAVU BODOVANJA U RANOM
POSTAVLJANJU DIJAGNOZE SEPSE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019.



Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Gordana Fressl Juroš

**DOPRINOS PRESEPSINA,
PROKALCITONINA I
C-REAKTIVNOG PROTEINA
SOFA SUSTAVU BODOVANJA U RANOM
POSTAVLJANJU DIJAGNOZE SEPSE**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Prof. dr. sc. Dunja Rogić

Prof. dr. sc. Mladen Perić

Zagreb, 2019.



University of Zagreb

Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Gordana Fressl Juroš

**CONTRIBUTION OF PRESEPSIN,
PROCALCITONIN AND C-REACTIVE
PROTEIN TO THE SOFA SCORE IN
EARLY SEPSIS DIAGNOSIS**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Professor Dunja Rogić, PhD

Professor Mladen Perić, PhD

Zagreb, 2019

Zahvala

Zahvaljujem prof. dr. sc. Dunji Rogić i prof. dr. sc. Mladenu Periću što su mi dali priliku za izradu ovog doktorskog rada.

Izuzetno sam zahvalna mojim doktoricama Morani Tomičić i Stelli Davila za veliku pomoću u odabiru bolesnika i sakupljanju uzoraka. Također im zahvaljujem na pomoći u opsežnoj kliničkoj obradi podataka.

Ostvarenje ovog rada ne bi bilo moguće bez pomoći djelatnika Odjela za hitnu laboratorijsku dijagnostiku i pretrage uz bolesnika, kao i dežurnih specijalista medicinske biokemije i laboratorijske medicine Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb koji su savjesno pohranjivali uzorke.

Zahvaljujem svim sestrama Zavodu za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje kirurških bolesnika KBC Zagreb koje su mi pomogle u prikupljanju potpisa rodbine oboljelih za pristanak uključivanja bolesnika u istraživanje.

Kao i u svemu, bez financijske potpore nema istraživanja. Hvala svima koji su mi u tome pomogli, a posebno kolegi iz studentskih dana i prijatelju Matku Galekoviću.

A da bez prijatelja nema ništa, dokazuje moja prijateljica Ivana Rako svojom nesebičnom prisutnošću tijekom cijelog perioda izrade ovog rada.

Naravno, najbliži su najvažniji i nezaobilazni na ovome putu:

- Jedni, osuđeni na trpljenje – zahvaljujem mojima, sinu *Tinači* i suprugu *Gogi*, na trpljenju moje duhovne i fizičke odsutnosti tijekom izrade ovog rada.
- Drugi, uvijek prisutni kada je najteže – zahvaljujem mojim roditeljima *Miškecu* i *Pupici* te bratu *Sini* na bodrenju u silaznim putanjama ovoga rada.

„Ne moram pobijediti, ali moram biti čestit.

Ne moram uspjeti, ali moram biti dorastao svjetlosti koju posjedujem“

Abraham Lincoln

Sažetak

Cilj: Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost poboljšanja dijagnostičke točnosti ranog otkrivanja sepse u hitnih abdominalnih kirurških bolesnika dodavanjem triju biokemijskih biljega upale/infekcije početnom SOFA sustavu bodovanja (*i*SOFA): presepsina (PSEP) kao predstavnika nove generacije, te prokalcitonina (PCT) i C-reaktivnog proteina (CRP) kao predstavnika rutinskih biljega.

Materijali i metode: Ispitivanu populaciju činila su sedamdeset i dva hitna bolesnika s radnom dijagnozom akutnog abdomena, podvrgnuta hitnomu kirurškom zahvatu. Istraživanje je ispitalo dijagnostičku točnost pojedinih biljega u razlikovanju dviju skupina ispitanika: s postavljenom dijagnozom sepse i bez sepse. Također je ispitivana prediktivna vrijednost dvaju modela u ranom postavljanju dijagnoze sepse: prvi modela koji uključuje samo *i*SOFA i drugi koji predstavlja kombinaciju triju navedenih biljega i *i*SOFA.

Rezultati: *i*SOFA je pokazao najveću dijagnostičku točnost u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika s AUC=0,967. Slijede PSEP s AUC=0,738 te PCT s AUC=0,694. CRP s AUC=0,606 se pokazao kao biljeg s najmanjom dijagnostičkom točnošću razlikovanja septični od neseptičnih bolesnika. Logistička regresijska analiza obaju modela pokazala je da se upotrebom prvog modela koji uključuje samo *i*SOFA, u bolesnika s povećanjem vrijednosti ovog parametra, vjerojatnost za sepsu povećava dvostruko. Drugi model, koji osim *i*SOFA uključuje i biokemijske biljege PSEP, PCT i CRP, pokazuje da se uz povećanje vrijednosti *i*SOFA i povećanje koncentracija navedenih biljega, ova vjerojatnost povećava tri puta.

Zaključak: Iako je SOFA sustav bodovanja prihvaćen kao temelj postavljanja dijagnoze sepse pokazalo se da su PSEP i PCT, dobri neovisni biljezi sa statistički značajno većim koncentracijama u septičnih nego u neseptičnih bolesnika. CRP, kao neovisni biljeg, se nije pokazao statistički značajno različit između septičnih i neseptičnih bolesnika. Ispitivanje dijagnostičke točnosti biokemijskih biljega PSEP, PCT i CRP kao neovisnih parametara je pokazalo da PSEP ima veću dijagnostičku specifičnost (33%) od PCT-a (17%) i CRP-a (14%). Također se pokazalo da biljezi PSEP i PCT ne doprinose statistički značajno ispitivanom modelu s *i*SOFA. CRP je jedini biljeg koji ima statistički značajan doprinos u ispitivanom modelu s *i*SOFA. Buduća istraživanja trebala bi ispitati dijagnostičku vrijednost dinamičkih promjena ovih triju biokemijskih biljega u predviđanju i ranom postavljanju dijagnoze sepse.

Ključne riječi: sepsa, SOFA, presepsin, prokalcitonin, akutni abdomen.

Summery

Purpose: This study examined whether the addition of biomarkers presepsin (PSEP), procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) to the initial SOFA (*i*SOFA) score can improve diagnostic accuracy of early sepsis diagnosis in emergency abdominal surgery patients.

Materials and Methods: Seventy-two study subjects had the diagnosis of acute abdomen due to gastrointestinal disturbances. The study evaluated diagnostic accuracy and predictive value of two models (*i*SOFA only and *i*SOFA combined with three biomarkers) for sepsis diagnosis.

Results: *i*SOFA has shown highest diagnostic accuracy in distinguishing septic from non-septic patients with AUC=0,738. Following are PSEP with AUC = 0.738 and PCT with AUC = 0.694. Logistic regression analysis of both models has shown that by using the first model including only *i*SOFA, the patients with increasing *i*SOFA have the probability of sepsis two times higher then the patients with low *i*SOFA value. The second model, which includes biomarkers PSEP, PCT, and CRP in addition to *i*SOFA, shows that with increasing *i*SOFA values and increasing concentrations of these biomarkers, this probability increases three times.

Conclusion: Although the SOFA scoring system has been accepted as key parameter in sepsis diagnosis, it has been shown that PSEP and PCT are good independent markers with statistically significant higher concentrations in septic than in non-septic patients. CRP, as an independent marker, has not shown statistically significantly different between septic and non-septic patients. Examination of diagnostic accuracy of biomarkers PSEP, PCT and CRP as independent parameters has shown that PSEP has a higher diagnostic specificity (33%) than PCT (17%) and CRP-a (14%). It has also been shown that PSEP and PCT do not contribute statistically significantly to the examined model with *i*SOFA. CRP is the only one with a statistically significant contribution to the model wih *i*SOFA. Future investigations should examine the diagnostic value of dynamic changes of the three biomarkers in the prognosis and the early diagnosis of sepsis.

Keywords: Sepsis, SOFA, presepsin, procalcitonin, abdominal surgery

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1 POVIJEST SEPSE I SEPTIČKOG ŠOKA	1
1.1.1 Otkriće infekcije	1
1.1.2 Otkriće endotoksina i egzotoksina.....	2
1.1.3 Otkriće citokina	2
1.1.4 Krvožilni sustav i sepsa	3
1.1.5 Septički šok	3
1.1.6 Hemodinamičke promjene u septičkom šoku.....	4
1.2 EPIDEMIOLOGIJA SEPSE	4
1.2.1 Pojavnost	5
1.2.2 Smrtnost.....	5
1.2.3 Pojavnost sepse s obzirom na podrijetlo infekcije.....	6
1.2.4 Pojavnost sepse s obzirom na mjesto infekcije	7
1.3 DEFINICIJA I PATOFIZIOLOGIJA SEPSE	8
1.3.1 Definicija sepse	8
1.3.2 Patofiziologija sepse.....	11
1.3.3 Pokretanje imunološkog odgovora u sepsi	12
1.3.4 <i>Toll-like</i> receptori (TLR)	14
1.3.5 MyD88 aktivacija	16
1.3.6 TRIF aktivacija.....	16
1.3.7 Aktivacija stanica koreceptorima	16
1.3.8 Negativna regulacija signalne kaskade.....	18
1.3.9 Citokini u patofiziologiji sepse.....	20
1.3.10 Proupalni citokini	21
1.3.11 Protuupalni citokini	26
1.3.12 Kinetika citokina	27
1.3.13 Veza između prirodene i stečene imunosti	27
1.3.14 Mehanizam poremećaja funkcije organa u sepsi	28
1.3.15 Poremećaj funkcije endotela i mikrocirkulacije	28
1.3.16 Reprogramiranje staničnog metabolizma	29
1.3.17 Komunikacija imunološkoga i neurološkog sustava	30
1.3.18 Sepsa u kirurških bolesnika	30

1.4	BIOKEMIJSKI BILJEZI UPALE/INFEKCIJE	32
1.4.1	CRP	32
1.4.2	Prokalcitonin	32
1.4.3	Presepsin.....	33
1.5	HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA	35
2.	CILJ ISTRAŽIVANJA	36
2.1	Glavni cilj istraživanja:.....	36
2.2	Specifični ciljevi:.....	36
3.	MATERIJALI I METODE.....	37
3.1	Ustroj istraživanja i etička načela.....	37
3.2	Mjesto i vrijeme provođenja.....	37
3.3	Ispitanici	37
3.4	Metode.....	38
3.5	Glavni ishod kliničkog stanja bolesnika.....	41
3.6	Statistička obrada podataka	41
4.	REZULTATI.....	43
4.1	Karakteristike bolesnika i mikrobiološki nalazi	43
4.2	Usporedba <i>i</i> SOFA, presepsina, prokalcitonina i CRP-a te raspodijela rezultata kreatinina i eGFR u dvjema skupinama bolesnika	45
4.3	Dijagnostička točnost i granične vrijednosti presepsina, prokalcitonina, CRP-a i <i>i</i> SOFA....	51
4.4	Multivarijatna logistička regresijska analiza doprinosa presepsina, prokalcitonina i CRP-a početnom SOFA sustavu bodovanja u otkrivanju septičnih bolesnika	54
4.5	Korelacija presepsina s biljezima bubrežne funkcije: kreatinin i procijenjene brzine glomerularne filtracije (eGFR)	58
5.	RASPRAVA.....	59
5.1	Osobitost populacije kirurških bolesnika	60
5.2	Perioperacijska dijagnostička točnost početnog SOFA sustava bodovanja, presepsina, prokalcitonina i CRP-a u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika	61
5.2.1	SOFA sustav bodovanja	61
5.2.2	Presepsin i prokalcitonin	62
5.2.3	C-reaktivni protein.....	63
5.2.4	Izrazito visoke vrijednosti biljega upale/infekcije u skupini neseptičnih bolesnika.....	64
5.3	Prediktivna vrijednost prvog i drugog ispitivanog modela za predviđanje sepse.....	65
5.4	Utjecaj bubrežne funkcije na koncentraciju istraživanih biljega upale/infekcije	66
6.	ZAKLJUČCI.....	68

7. LITERATURA	69
8. POPIS KRATICA	84
9. ŽIVOTOPIS	88

1. UVOD

1.1 POVIJEST SEPSE I SEPTIČKOG ŠOKA

1.1.1 Otkriće infekcije

Iako se pojam sepse povezuje s modernom medicinom, sam je koncept prilično star. U prošlosti, kada je higijena u medicini bila nepoznanica, tadašnja je kirurgija strahovala od komplikacija infekcije rana prouzročenih procesima truljenja. U doba prije Krista, cca 400 godina, Hipokrat je prvi uveo riječ sepsa (grčki σήψις, sîpsi, učiniti crvenim, trulim) u medicinski rječnik. On je opisivao sepsu kao opasno biološko truljenje neugodnog mirisa koje se može javiti u tijelu. Ovaj koncept sepse koristio se sve do 19. stoljeća do kada se smatralo da su uzročnici sepse toksične tvari iz zraka koje ulaze u tijelo i prouzrokuju opasnu bolest. Devetnaesto stoljeće predstavlja ulazak u eru eksponencijalnog rasta spoznaja o uzroku i prijenosu infektivnih bolesti. Najvažnija imena tog doba jesu Josef Lister, Ignaz Semmelweis, Louis Pasteur, Joseph Lister i Robert Koch koji su uvelike doprinijeli napretku otkrivanja podrijetla infektivnih bolesti. Prvi je od njih Ignaz Semmelweis (1818. – 1865.), mađarski liječnik zaposlen u bečkoj bolnici i specijaliziran za porodiljstvo. On je prvi razvio moderan pogled na sepsu kada je uočio velik udio smrtnosti roditelja prouzročen roditeljskom groznicom i povezo je s pregledima koje su provodili studenti medicine neposredno nakon sata patologije na kojem su sudjelovali u obdukciji žena koje su preminule dan prije. Tada higijenske mjere pranja ruku ili upotrebe kirurških rukavica nisu bile uobičajena praksa. Semmelweis je smatrao da groznicu prouzrokuju otrovi kadavera koji se prenose s ruku studenata i liječnika u roditelju za vrijeme poroda. Uveo je obvezu pranja ruku kloriranim otopinom vapna prije svakoga ginekološkog pregleda, čime je znatno smanjio smrtnost roditelja. Bez obzira na ovaj uspjeh higijenske mjere nisu bile opće prihvaćene od njegovih kolega koji su smatrali da tvrdnja o potrebi pranja ruku nije znanstveno opravdana i da ništa nevidljivo ne može prouzročiti bolest. Semmelweis je bez obzira na brojne studije koje dokazuju njegove tvrdnje bio šikaniran od kolega koji su tvrdili da su liječnici gospoda, a gospoda imaju čiste ruke i nije moguće da oni prenose infekcije. Ubrzo je smješten u ustanovu za mentalne bolesti gdje je i umro od posljedica infekcija rana koje je zadobio premlaćivanjem tijekom boravka ondje. Tek nakon njegove smrti dokazano je da postoje nevidljivi organizmi koji prouzrokuju bolest. Sredinom 19. stoljeća porastao je broj kirurških zahvata, a usporedno s njima i pojavnost infekcija i posljedična smrtnost. Čuveni Louis Pasteur otkrio je sićušne jednostanične organizme koji prouzrokuju truljenje i krajem 19. stoljeća predlaže teoriju klica koja se

temeljila na njegovim istraživanjima kojima je dokazao da su za truljenje potrebni živi organizmi. Kasnije prikazuje streptokoke kao uzročnike rodiljne sepse. Joseph Lister, britanski kirurg, prihvaća Pasteurovu teoriju klica i dovodi je u vezu s infekcijom kirurških rana. Uvodi u upotrebu fenol kao dezinficijenskirurških rana i time znatno smanjuje udio kirurške sepse i smrtnosti u svojoj bolnici. Objavljivanjem svojih rezultata pokrenuo je promjene u kirurškoj praksi koje su rezultirale smanjenjem poslijeoperacijskih infektivnih komplikacija. U istom je razdoblju Robert Koch radio na proučavanju teorije klica u bolesti. On postavlja svoj popularni postulat o načinu identifikacije infektivnih tvari, uspijeva uzgojiti kulturu tvari i njome izazvati infekciju/bolest u zdravoj eksperimentalnoj životinji u koju je inokulirao dotičnu tvar. Također doprinosi razvoju kirurškog autoklava temeljem dokaza koji potvrđuju da je parna sterilizacija kirurških instrumenata učinkovitija od kemijske. S općim prihvaćanjem teorije klica u medicinskoj zajednici pažnja se preusmjerava na ciljano iskorjenjivanje novootkrivenih infektivnih organizama. Tu se spominje Paul Erlich koji je uveo teoriju o postojanju spojeva sposobnih za uništavanje novootkrivenih uzročnika infekcije i sepse. Slijedom navedene teorije dolazi otkriće penicilina Alexandra Fleminga. Fleming je tijekom Prvog svjetskog rata bio svjedok smrtnih ishoda vojnika zbog nadmoćnih infekcija i sepsa i potaknut time usmjerio je interes u otkrivanje lijeka protiv infekcije. Također je otkrio pojavu bakterijske rezistencije do koje dolazi pri premaloj dozi penicilina ili njegovoj prekratkoj primjeni (1).

1.1.2 Otkriće endotoksina i egzotoksina

Sljedeća enigma bila je kako infektivni materijal može prouzročiti tako ozbiljne posljedice za organizam. Činilo se da je izrazito mala količina infektivnih čestica dovoljna za ozbiljnu intoksikaciju i smrt. Ludwig Brieger je izdvojio egzotoksin osjetljiv na toplinu iz kulture uzročnika difterije i primijetio da se ovaj toksin stvara tijekom životnog vijeka uzročnika. Richard Pfeiffer je otkrio termostabilan toksin u zidu bakterijske stanice i nazvao ga endotoksin. Talijanski patolog Eugenio Centanni otkrio je povezanost između Pfeifferovog endotoksina i sposobnosti bakterija da prouzroče povišenje tjelesne temperature. Otkrio je da su te tvari neodvojive od bakterijskoga staničnog zida i nazvao ga pirotoksin (1,2).

1.1.3 Otkriće citokina

Radovi o citokinima provedeni do četrdesetih godina dvadesetog stoljeća pokazali su da se iz leukocita prisutnih u gnoju oslobađaju toplivi faktori koji djelujući na tijelo izazivaju vrućicu, oticanje i bol. Isaacs i Lindenmann opisali su učinak pročišćenog citokina

oslobođenog iz virusom inficiranih fibroblasta koji je interferirao u umnažanju virusa i činio nezaražene stanice otpornima na infekciju pa su ga zbog tog učinka nazvali „interferon“ (3,4). Tijekom sedamdesetih i osamdesetih godina prošlog stoljeća istraživanja na polju biologije citokina dokazala su da različiti tipovi stanica mogu proizvoditi vrlo različite biološki aktivne topljive tvari koje utječu na imunološku funkciju. Jedan od istraživača, Cohen, nazvao je ove čimbenike citokini (5). Jedan od najranije istraživanih citokina jest interleukin-1 (IL-1) koji su Gery i suradnici opisali kao mitogeni čimbenik periferne krvi koji potječe od aktivacije monocitno-makrofagnog sustava, a koji se još nazivao faktor aktivacije limfocita (6). IL-1 ima pirogeni aktivnost, a danas je općepoznata njegova uloga u patogenezi sepse. Uz IL-1 faktor nekroze tumora (TNF) također je jedan od najranije otkrivenih citokina s ključnom ulogom u patogenezi sepse i septičkog šoka te ostalih sustavnih upalnih stanja. Otkrivanje uloge citokina u aktivaciji imunološkog sustava navelo je kliničare na istraživanje citokina kao mogućih terapijskih ciljeva u liječenju sepse i septičkog šoka (1).

1.1.4 Krvožilni sustav i sepsa

Ubrzo nakon otkrivanja uloge proupalnih citokina u sepsi otkriven je i medijator njihova djelovanja na krvožilni sustav. Otkriveni medijator očituje se vazodilacijskim svojstvom na krvožilni sustav i to mu daje ključnu ulogu u patogenezi sepse. Osvrt na povijest sepse ne bi trebalo završiti bez navođenja ovoga važnog medijatora. Radi se o medijatoru dušikovom monoksidu (NO) za čije je otkriće i otkriće njegova učinka na krvožilni sustav dodijeljena Nobelova nagrada za medicinu 1998. godine znanstvenicima Furchgot, Ignarro i Murad. Danas je poznato da NO ima ključnu ulogu u patofiziologiji kardiovaskularnog kolapsa u sepsi zbog njegova pojačanog stvaranja (1).

1.1.5 Septički šok

Početkom 20. stoljeća, točnije za vrijeme Prvog svjetskog rata, traumatski šok viđen na bojnim poljima, a prouzročen gubitkom cirkulirajuće krvi zbog ranjavanja bio je potpuno razumljiv, no uzrok posttraumatskog šoka u odsutnosti krvarenja bio je potpuno nejasan (7). Postavljena je teorija da nehemoragijski, posttraumatski šok prouzrokuju toksini oslobođeni iz rana koji izazivaju neurogeni vazodilataciju i nakupljanje krvi u periferiji. Istraživanjem na životinjskim modelima Blalock i suradnici pokazali su da nehemoragijski traumatski šok prouzrokuje nakupljanje krvi i tekućine u oštećenom tkivu, a ne cirkulirajući toksini, zaustavljajući krv u cirkulaciji (8). Ovaj je koncept jedan od najranije prihvaćenih patofizioloških obrazaca sepse i septičkog šoka. Iako je u početku traumatski šok kao

uzročnik hipovolemičkog šoka najviše istraživani, pokazalo se da i druga klinička stanja mogu rezultirati sličnom konstelacijom simptoma i sindroma. Stoga je predloženo nekoliko etioloških kategorija šoka. Međutim, klasifikacija temeljena na kardiovaskularnim karakteristikama opće je prihvaćena među kliničarima, a septičkim šokom smatra se oblik distributivnog šoka prouzročenog gubitkom vazomotorne kontrole u arteriolama i venulama koja rezultira njihovom dilatacijom, a nadoknađivanjem tekućine povećava se minutni volumen srca i smanjuje sistemski vaskularni otpor (1).

1.1.6 Hemodinamičke promjene u septičkom šoku

Napredak u razumijevanju hemodinamičkih karakteristika septičkog šoka doprinio je primjeni sofisticiranog praćenja pacijenata u kritičnom stanju. Istraživanje Clowesa i suradnika potvrdilo je zapažanja da su bolesnici kod kojih je stanje septičkog šoka završilo smrtnim ishodom imali smanjenje funkcije miokarda i smanjen minutni volumen srca koji su posljedica metaboličke naravnoteže i pojačanih lokalnih metaboličkih zahtjeva (9). Pokazalo se da su septični bolesnici početno hipovolemični i da uz oživljavanje adekvatnom volumnom nadoknadom prelaze u hiperdinamičko stanje karakterizirano velikim minutnim volumenom i malim sistemskim vaskularnim otporom koje u slučaju dekompenzacije prelazi u septički šok s depresijom miokarda i izrazitim smanjenjem minutnog volumena srca (1). Parrillo i suradnici pokazali su da u stanju sepse u cirkulaciji postoje tvari koje prouzrokuju depresiju miokarda, a identifikacijom tih tvari otkrili su da se radi o IL-1 i TNF. Te tvari prouzrokuju depresiju miokarda putem medijatora NO i cGMP (10).

Ova istraživanja proširila su se sve do danas kada znanstvenici otkrivaju molekularni misterij sepse što omogućuje poboljšanje razumijevanja patofiziologije ovog sindroma. Nastavak istraživanja sepse već je rezultirao smanjenjem smrtnosti u odnosu na prošlost, a poboljšanje rezultata nesumnjivo će se nastaviti.

1.2 EPIDEMIOLOGIJA SEPSE

Sepsa je složen sindrom koji se razvija kao posljedica poremećaja regulativnog odgovora domaćina na infekciju, a koji je udružen s akutnim organskim poremećajem i visokim rizikom smrtnosti. Ovaj sindrom zahtijeva hitnu intervenciju i zato je svjesnost o njegovoj prisutnosti od velikog značaja. Svjetska zdravstvena organizacija postavila je sepsu kao globalni zdravstveni prioritet u 2017. godini i usvojila rezoluciju za poboljšanje prevencije, liječenja i upravljanja sepsom (11).

1.2.1 Pojavnost

Pojavnost je sepse visoka. Sepsa je vodeći uzrok smrti u svijetu i predstavlja globalni zdravstveni problem sa znatnim ekonomskim posljedicama. Posljednjih 40 godina (1975. – 2015.) procjena pojavnosti bolnički liječene sepse iznosi prosječno 288 te teške sepse 148 slučajeva na 100000. Analizom posljednjeg desetljeća pojava iznosi: za sepsu 437 i za tešku sepsu 271 na 100000. Podatci o pojavnosti globalno su vrlo varijabilni jer su dobiveni uglavnom iz razvijenih zemalja i to najviše iz Sjeverne Amerike. Podatci iz srednje i nisko razvijenih zemalja vrlo su ograničeni (12). Varijabilnost podataka također je pod utjecajem različitih strategija za identifikaciju septičnih bolesnika. U novijim objavljenim studijama korištena je nova, Sepsis-3 definicija u kojoj ne postoji koncept teške sepse. Jedna je studija uspoređivala pojava sepse u Švedskoj temeljenu na novoj Sepsis-3 definiciji i definiciji iz 1991./2001. i nađena je slična pojava 780/100000 s novom definicijom i 687/100000 sa starom definicijom (13,14).

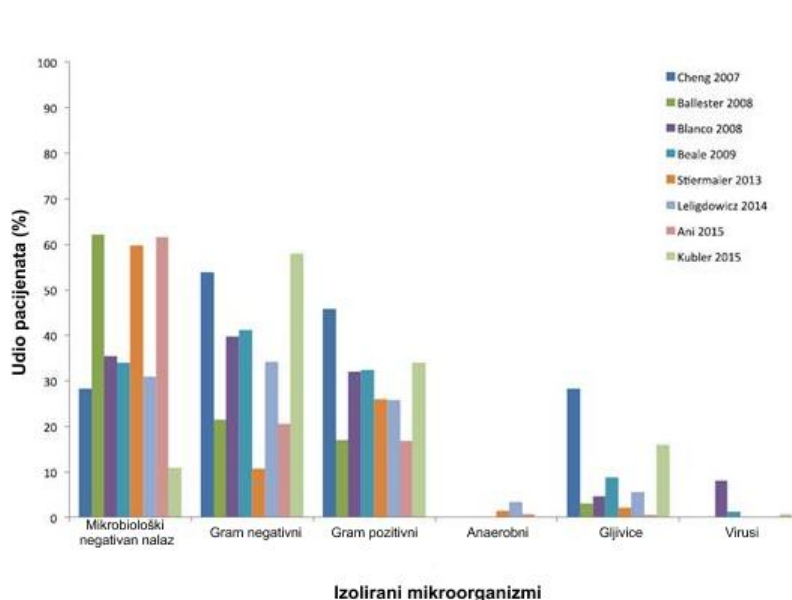
1.2.2 Smrtnost

Rezultati studija o procjeni smrtnosti izrazito variraju, a ovisni su o samoj definiciji sepse, ispitivanoj populaciji, kriterijima uključivanja i isključivanja različitih skupina koje predstavljaju sepsu, tešku sepsu i septički šok. Tako je pokazano da je za skupinu pacijenata sa sepsom bez organske disfunkcije procjena smrtnosti od 11 do 26% (12). Studije koje su ispitivale smrtnost u skupini pacijenata s teškom sepsom u razdoblju od 1991. do 2009. godine pokazale su da je procjena 28-dnevne smrtnosti iznosila 33,2% (15). Međunarodna trogodišnja studija pokazala je da je smrtnost u pacijenata s teškom sepsom iznosila 49,6%. Retrospektivna multicentrična studija smrtnosti u jedinicama intenzivnog liječenja u Kanadi, SAD-u i Saudijskoj Arabiji u pacijenata sa septičkim šokom pokazala je da je prosječna bolnička smrtnost iznosila 52%, od čega je najviše smrtnih slučajeva bilo u pacijenata s ishemijskom crijeva, 75% (16). Studije pokazuju trend smanjenja bolničke smrtnosti povezane sa sepsom. Desetogodišnje istraživanje u SAD-u pokazalo je porast pojavnosti septičkog šoka s 12,8 na 18,6 slučajeva na 1000 hospitaliziranih pacijenata, prosječno 4,9% godišnje te pad smrtnosti s 48,3% na 39,3%, prosječno 1,2% godišnje (17). Sedmogodišnje poljsko istraživanje smrtnosti pokazalo je pad smrtnosti s 54% i 56% na 46% (18). U Australiji i Novom Zelandu zabilježen je izrazit pad smrtnosti s 35% u 2000. godini na 18,4% 2012. godine (19). Nalazi porasta pojavnosti sepse i septičkog šoka i istodobno smanjenje smrtnosti

moгу se povezati s poboljšanim prepoznavanjem sepse i pravodobno primijenjenom terapijom.

1.2.3 Pojavnost sepse s obzirom na podrijetlo infekcije

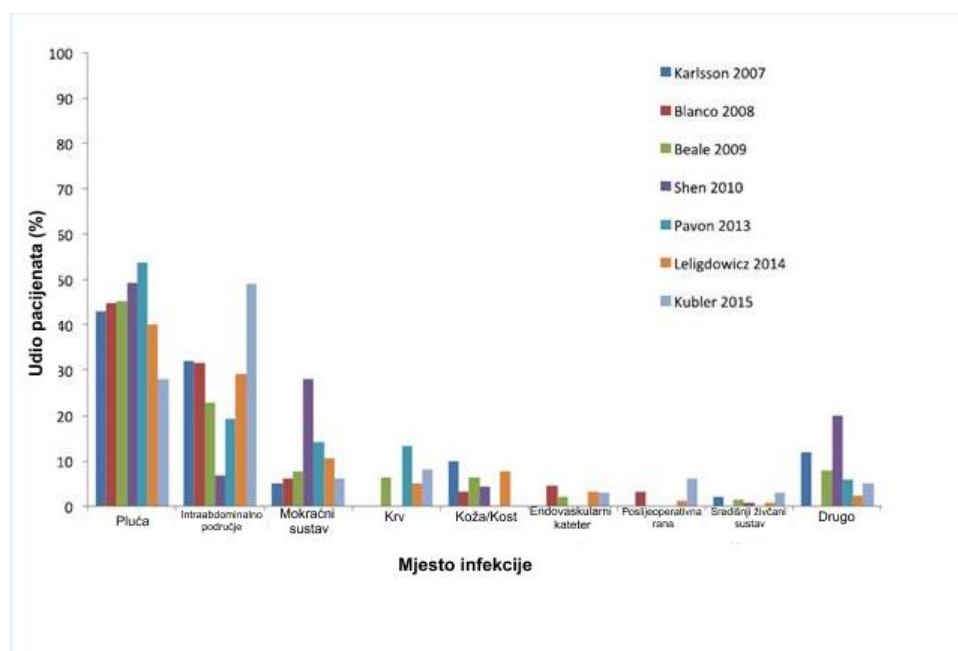
Točan utjecaj vrste infekcije na smrtnost nije jasno određen. Iako gljivice i virusne infekcije mogu prouzročiti sepsu, ipak su bakterije najčešći uzrok infekcije. Temeljem dostupnih epidemioloških podataka u otkrivanju etiologije sepse obično se nalaze mikrobiološki negativna, gram-negativna i gram-pozitivna sepsa, Slika 1. (20). Nedavna studija u Velikoj Britaniji pokazala je da gram-negativne bakterijemije rezultiraju većom smrtnošću od gram-pozitivnih. Međutim, bolničke infekcije gram-pozitivnim bakterijama pokazale su veću smrtnost (21). Gupta i suradnici pokazali su da 47,1% hospitaliziranih slučajeva teške sepse ima negativan nalaz hemokulture (22). Od gram-negativnih bakterija najčešći uzročnici infekcije jesu bakterije *Escherichia coli* i *Pseudomonas species*, a na njih se nastavlja *Streptococcus pneumoniae*. Zanimljivo je spomenuti da 10% gram-pozitivnih infekcija prouzrokuje meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus* (23). Epidemiološko istraživanje u Hrvatskoj također je pokazalo da su najčešći uzročnici sepse *Escherichia coli* (11,6%), *Pseudomonas species* (9,9%) te meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus* (9,3%) (24). Jedna velika studija pokazala je da karakteristika infekcije nije povezana sa smrtnosti (25).



Slika 1. Mikrobiološke kategorije u septičnih bolesnika, bojama su istaknuti autori i rezultati njihovih istraživanja (preuzeto od Tillmann i suradnika (20))

1.2.4 Pojavnost sepse s obzirom na mjesto infekcije

Sepsa može nastati kao posljedica bolničke i/ili izvanbolničke infekcije, a tri najčešća anatomska mjesta infekcije jesu pluća, urinarni sustav i abdomen (16,26). Intraabdominalne infekcije javljaju se u 20 – 50% slučajeva sepse, Slika 2. (18,27,28). Čini se da mjesto infekcije uvelike utječe na ishod, što su pokazali Cohen i suradnici u meta analizi koja je obuhvatila 510 radova. U navedenoj studiji ispitan je utjecaj karakteristike infekcije na ishod sepse i nađeno je da urosepsa i infekcije povezane s centralnim venskim kateterom imaju malu vjerojatnost smrtnog ishoda. Infekcije povezane s dišnim i probavnim sustavom imaju veću vjerojatnost smrtnog ishoda (29)



Slika 2. Mjesta infekcije u septičnih pacijenata, bojama su istaknuti autori i rezultati njihovih istraživanja (preuzeto od Tillmann i suradnika (20)).

1.3 DEFINICIJA I PATOFIZIOLOGIJA SEPSE

1.3.1 Definicija sepse

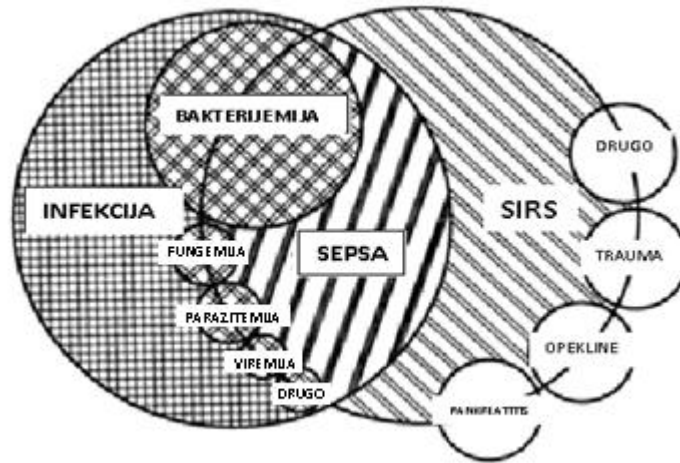
Današnja definicija sepse glasi: sepsa je životno ugrožavajući poremećaj organske funkcije prouzročen poremećajem regulacije odgovora domaćina na infekciju. Definicija je nastala kao rezultat evolucijske preobrazbe, Tablica 1. Njezin osnovni cilj bio je osigurati brzo prepoznavanje sindroma.

Prva definicija datira iz 1991. godine s konferencije *American College of Chest Physician (ACCP)* i *Society of Critical care Medicine (SCCM)* na kojoj je sepsa definirana kao sindrom sistemskoga imunološkog upalnog odgovora na infekciju (SIRS, engl. *System immune response syndrome*). Osim sepse definiran je i pojam teška sepsa koji predstavlja sepsu udruženu s organskom disfunkcijom, hipoperfuzijom i hipotenzijom te pojam septički šok kao stanje sepse s arterijskom hipotenzijom neosjetljivom na nadoknadu tekućine (30).

Revizija prve definicije provedena je 2001. godine tijekom međunarodne konferencije o definiciji sepse u kojoj su, osim stručnjaka ACCP-a i SCCM-a, bili uključeni i stručnjaci iz *American Thoracic Society (ATS)*, *European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)* i *Surgical Infection Society (SIS)*. Prema postignutom konsenzusu prva se definicija promijenila u dijelu proširenja liste kliničkih znakova sepse. Smatralo se da će ovaj način definiranja bolje odražavati klinički odgovor na stanje. Cilj uključivanja biokemijskih biljega u njezinu definiciju i razvoja sustava stupnjevanja sepse bio je poboljšanje zbrinjavanja kritičnih bolesnika (14).

U veljači 2016. slijedio je prijedlog nove definicije i kriterija sepse nazvan *Sepsis-3* koji je izdala radna skupina imenovana od ESCIM-a i SCCM-a (31). Važan napredak u razumijevanju patobiologije sepse (promjena organske funkcije, morfologije, stanične biologije, biokemije, imunologije i cirkulacije), vođenja pacijenata te epidemiologije upućivao je na potrebu za promjenom definicije i kliničkih kriterija s ciljem osiguranja standardizacije klasifikacije koja će olakšati skrb bolesnika u smislu ranijeg prepoznavanja septičnih i rizičnih bolesnika. Također se smatralo da će nova definicija poboljšati dosljednost kliničkih i epidemioloških istraživanja.

U novoj definiciji isključen je pojam SIRS zbog njegove loše dijagnostičke specifičnosti, Slika 3., i osjetljivosti te pojam teška sepsa koji se smatra suvišnim.



Slika 3. Povezanost SIRS-a, sepse i infekcije (preuzeto od Bone RC i suradnika (30))

Prema novoj definiciji sepse poremećaj organske funkcije definira se akutnom promjenom *Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment (SOFA)* sustava bodovanja za dva i više boda. Praćenje SOFA najprikladnije je za bolesnike smještene u jedinicama intenzivnog liječenja. Za izvanbolničke odrasle bolesnike te one u hitnim i otvorenim bolničkim odjelima za koje postoji sumnja na infekciju i sepsu preporučuje se brza dijagnostika upotrebom brzog SOFA sustava bodovanja nazvanim *quick SOFA (qSOFA)*, Tablica 2. (32). Za definiciju sepse upotrebom qSOFA trebaju biti prisutna barem dva klinička kriterija: brzina disanja >22 udisaja u minuti, promjena mentalnog statusa ili sistolički krvni tlak ≤ 100 mmHg. Prema novoj definiciji septičkim šokom se smatra potkategorija sepse u kojoj se produbljuju cirkulacijske, stanične i metaboličke abnormalnosti koje rizik od smrtnosti povećavaju više nego sepsa sama. Bolesnici u septičkom šoku klinički se identificiraju kao normovolemični s padom središnjega arterijskog tlaka (MAP) za čije je održavanje na vrijednosti ≥ 65 mmHg potrebna primjena vazopresora. Osim hipotenzije dodatni pokazatelj septičkog šoka jest koncentracija laktata >2 mmol/L.

Tablica 1. Evolucija definicije sepse

Prva definicija (1991. godina) (<i>Sepsis-1</i>)	Druga definicija (2001. godina) (<i>Sepsis-2</i>)	Treća definicija (2016. godina) (<i>Sepsis-3</i>)
<p>Sepsa</p> <p>SIRS u prisutnosti infekcije (dokazane ili kliničke sumnje na prisutnost)</p> <p>SIRS sistemski upalni odgovor na infekciju (prisutnost više od 1 od 4 nalaza: Tjelesna temperatura > 38,0 ili < 36,0 °C Otkucaji srca > 90 otkucaja/min Tahipneja > 20 udisaja/min ili hiperventilacija s pCO₂ < 32 mmHg (4,3 kPa) Broj leukocita (WBC) > 12000/mm³ ili < 4000 cells/mm³</p> <p>Teška sepsa</p> <p>Sepsa udružena s organskom disfunkcijom, hipoperfuzijom ili hipotenzijom</p> <p>Septički šok</p> <p>Sepsa s arterijskom hipotenzijom unatoč svim mjerama nadoknade tekućine.</p>	<p>Sepsa</p> <p>Infekcija (dokazana ili klinička sumnja) na prisutnost i neki od sljedećih parametara: Opći: Vrućica – >38,3°C Hipotermija – < 36 °C) Otkucaji srca - > 90 otkucaja/min ili > 2SD iznad normalnih vrijednosti za dob Tahipneja → 30 udisaja/min Promijenjen mentalni status Edem ili pozitivan balans tekućine – > 20 ml/kg u više od 24h Hiperglikemija – glukoza u plazmi/serumu > 7,7 mmol/L u odsutnosti šećerne bolesti Upalni Leukocitoza – > 12000/μl Leukopenija – < 4000/μl Normalan broj leukocita s >10% nezrelih oblika Biokemijski biljezi u plazmi/serumu > 2SD iznad gornje granice referentnog intervala: C-reaktivni protein i prokalcitonin Hemodinamički parametri Hipotenzija – sistolički tlak < 90 mmHg, MAP < 70mmHg ili smanjenje sistoličkog tlaka za > 40 mmHg u odraslih ili 2SD ispod referentne vrijednosti za dob Zasićenost miješane venske krvi kisikom > 70% Srčani indeks > 3,5 l/min/m² Organska disfunkcija Smanjenje sadržaja kisika u arterijskoj – PaO₂/FIO₂ < 300 mmHg/40 kPa) Akutna oligurija – volumen izlučenog urina < 0,5 ml/kg/h Povećanje koncentracije kreatinina u plazmi/serumu za ≥ 0,5 mg/dl/44 μmol/L Poremećaj koagulacije – INR >1,5 ili APTV > 60 s Ileus Trombocitopenija <100000/μl Hiperbilirubinemija - 4 mg/dl ili 70 μmol/l Tkivna prokrvljenost Hiperlaktatemija > 3 mmol/l Smanjenje kapilarnog punjenja Teška sepsa kao u <i>Sepsis-1</i> Septički šok kao u <i>Sepsis-1</i></p>	<p>Sepsa</p> <p>Životno ugrožavajuća organska disfunkcija prouzročena nereguliranim odgovorom domaćina na infekciju. Organska disfunkcija – akutna promjena SOFA sustava bodovanja za ≥2. qSOFA - brza identifikacija bolesnika sa sumnjom na infekciju i visokim rizikom smrtnosti: Hipotenzija ≤100 mmHg Promjena mentalnog statusa Tahipneja ≥ 22 udisaja/min</p> <p>Septički šok</p> <p>Sepsa i hipotenzija bez obzira na nadoknadu tekućine uz upotrebu vazopresora za održavanje MAP ≥65 mmHg Laktat ≥ 2mmol/L</p>

SIRS, sistemski imunološki upalni odgovor; pCO₂, parcijalni tlak ugljičnog dioksida; SD, standardna devijacija; MAP, srednji arterijski tlak; PaO₂/FIO₂, omjer arterijskog parcijalnog tlaka kisika i udjela udahnutog kisika; INR, međunarodni normalizirani omjer; APTV, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, SOFA, *Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment* sustav bodovanja; qSOFA, brzi *Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessments* sustav bodovanja

Tablica 2. SOFA sustav bodovanja (preuzeto od Vincent i suradnika (32))

Sustav	Bodovi				
	0	1	2	3	4
DISANJE					
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg(kPa)	>400 (53,3)	<400 (53,3)	<300 (40,0)	<200 (26,7) s potporom disanja	<100 (13,3) s potporom disanja
KOAGULACIJA					
Trombociti x10 ⁹ /L	≥150	<150	<100	<50	<20
JETRA					
Bilirubin, mg/dL (μmol/L)	<1,2 (20)	1,2-1,9 (20-32)	2,0-5,9 (33-101)	6,0-11,9 (102-204)	>12,0 (204)
SRČANO-ŽILNI SUSTAV					
MAP/kateholamini	MAP ≥ 70 mmHg	MAP < 70 mmHg	dopamin <5 ili dobutamin u bilo kojoj dozi*	dopamin 5,1-15 ili epinefrin ≤0,1 ili norepinefrin ≤0,1*	dopamin 5,1-15 ili epinefrin ≤0,1 ili norepinefrin ≤0,1*
SREDIŠNJI ŽIVČANI SUSTAV					
GCS	15	13-14	10-12	6-9	<6
BUBREZI					
Kreatinin, mg/dL (μmol/L)	<1,2 (1109)	1,2-1,* (110-170)	2,0-3,4 (171-299)	3,5-4,9 (300-440)	>5,0 (440)
Diureza mL/24sata				<500	<200

PaO₂/FIO₂, omjer arterijskog parcijalnog tlaka kisika i udjela udahnutog kisika, MAP, srednji arterijski tlak,

*doza kateholamina izražena je u μg/kg/min primijenjena najmanje 1 sat, GCS (engl. *Glasgow coma score*) - ljestvica za procjenu težine kome

1.3.2 Patofiziologija sepse

Složen i dinamičan patofiziološki mehanizam ovog sindroma nastaje kada se početni, svrhovit, ravnotežni odgovor domaćina na infekciju toliko pojača da ravnoteža između proupalnoga i protuupalnog odgovora izmakne kontroli. Ključnu ulogu u nastanku sepse ima prirodni imunološki odgovor koji je, za razliku od stečenoga imunološkog odgovora, trenutačni okidač obrane organizma protiv prisutnog patogena. Mehanizam koji uklanja infektivnog uzročnika djeluje u tri faze: prve dvije koje predstavljaju trenutni okidač, a počivaju na prepoznavanju uzročnika genski kodiranim receptorima i djelovanjem stanica prirodnog imunološkog odgovora. Slijedi treća faza stečenog imunološkog odgovora s klonalnom ekspanzijom B i T stanica koje se diferenciraju u efektorne stanice koje uklanjaju infekciju, Slika 4. (36). Aktivacija ove tzv. prve linije staničnog odgovora rezultira povećanim otpuštanjem citokina, kemokina i drugih upalnih regulatora. Pod utjecajem citokina započinje proces kretanja imunoloških stanica prema izvoru infekcije s ciljem njezine lokalizacije. U slučaju poremećaja regulacije lučenja citokina može nastati poremećaj endotelne funkcije karakteriziran vazodilatacijom i povećanom kapilarnom propusnošću koji se još naziva i sindrom propuštanja. On je odgovoran za nastanak hipotenzije, hemokoncentracije, izlazak

makromolekula iz krvotoka i pojavu edema, što je ubičajen nalaz u septičnih bolesnika (34). Poremećena epitelna funkcija omogućuje patogenima i njihovim produktima daljnji prodor u domaćina, čime se nastavlja narušavanje regulatornog odgovora organizma koje rezultira organskom disfunkcijom (35).



Slika 4. Slijed obrane od patogena (preuzeto od Janeway (36))

1.3.3 Pokretanje imunološkog odgovora u sepsi

Odgovor organizma na infekciju sastoji se od dviju imunoloških komponenti: prirodene i stečene imunosti koje se preklapaju i međusobno reagiraju. Imunološku obranu domaćina čine gotovo sva tkiva, a osobito su važne koža i površina sluznica dišnoga i probavnog sustava. Specijalizirane mijeloidne i limfoidne te efektorne stanice, a također i nehematopoetske stanice mogu pokrenuti prirodni mehanizam obrane i aktivirati se u odgovoru na infekciju (37). Prirodni imunološki odgovor može biti omogućen:

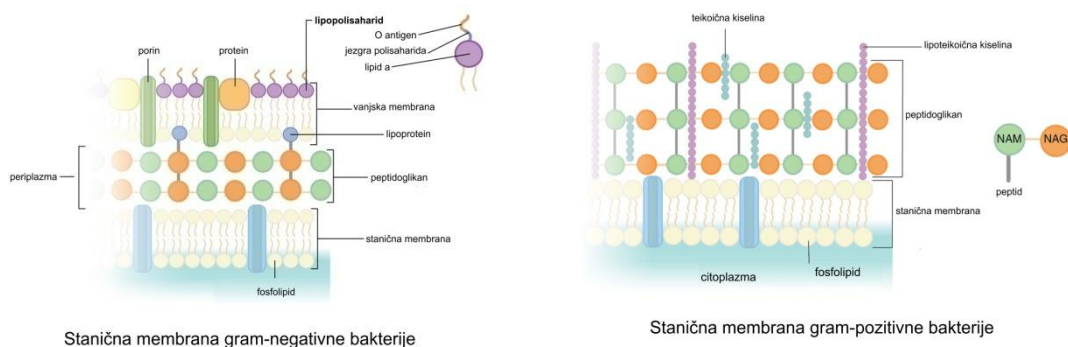
Stanično – uništavanje patogena fagocitozom i citotoksičnim djelovanjem ili

Sekrecijski – antimikrobnim peptidima kao što je *Cationic host defense peptide* (HDPs), komponentama komplementa (38), citokinima/kemokinima (39,40), hitinazama ili proteinima poput hitinaze (41), proteinima akutne faze, proteinazama i drugim molekulama.

Imunološke komponente prepoznaju patogen putem genski kodiranih receptora, *pattern recognition receptor*-a (PRR) koji su membranski ili citoplazmatski vezani. Dijele se u nekoliko glavnih skupina: najpoznatiji od njih je *toll-like receptor* (TLR), zatim *C-type lectin receptor* (CLR), *nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors* (NLR), *retinoic acid-inducible gene 1 (RIG-I)-like receptors* (RLR), novo klasificiran *absent in melanoma (AIM) - like receptors* (ALRs) te unutarstanični senzor DNK-a kao što je *cyclic GMP-AMP synthase* (cGAS) (33,42,43). Ovi su receptori različito lokalizirani u stanicama

domaćina. Na staničnoj površini i u endosomu nalaze se TLR i CLR, a u citosolu NLR, RLR i ALR (33,42). Najvećim se dijelom PRR nalaze na imunološkim stanicama prve linije obrane: monocitima, makrofagima, dendritičnim stanicama i neutrofilima. Također i neke neimunološke stanice pokazuju izražaj ovih receptora: tkivno-specifične epitelne i endotelne stanice kao i stanice živčanog sustava.

Osnovna karakteristika PRR jest prepoznavanje molekula na patogenima tzv. *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs). Ove su molekule općenito nevarijabilne unutar određene klase mikroorganizama, što omogućuje relativno malom broju PRR-ova da prepoznaju veliki broj potencijalnih patogena. Skupini PAMP pripadaju lipopolisaharidi (LPS), peptidoglikani, lipopeptidi, lipoteikolična kiselina (LTA), flagelini te bakterijska DNK (44). Klasičan primjer jesu LPS iz vanjskog dijela stanične membrane gram-negativnih bakterija te LTA iz stanične membrane gram-pozitivnih bakterija.



Slika 5. Stanični zid bakterija

LPS iz gram-negativnih bakterija ima vodeću ulogu u pokretanju imunološkog odgovora (također je poznat kao endotoksin). Molekula LPS-a vezana je lipidom A za membranu ovih bakterija koja je građena od dvostrukoga lipidnog sloja odvojenog peptidoglikanima od unutarnjega citoplazmatskog sloja. Gram-pozitivne bakterije nemaju endotoksin već njihova membrana sadržava peptidoglikane i lipoteikoličnu kiselinu koji su odgovorni za njihovu biološku aktivnost i proupalni učinak Slika 5. (45,46). Posebno je važna značajka ovih bakterija stvaranje snažnih egzotoksina od kojih je najpoznatiji *toxic shock syndrome toxin-1* (TSST-1) kojeg stvara soj zlatnog stafilokoka (*Staphylococcus aureus*) i pirogeni egzotoksin kojeg stvara beta-hemolitički streptokok skupine A (*Streptococcus pyogenes*). Oni se smatraju odgovornima za nastajanje toksičnog sindroma koji predstavlja najteži oblik septičkog šoka. Ovi egzotoksini predstavljaju skupinu superantigena, a mogu prouzročiti masivnu aktivaciju

T-limfocita i otpuštanje proupalnih citokina s posljedičnim produbljenjem septičkog stanja (47).

PRR također prepoznaju endogene molekule koje nastaju za vrijeme upalnog procesa zbog oštećenja stanica ili staničnog izlučivanja, a koje predstavljaju neposrednu opasnost za domaćina. Te se molekule nazivaju *danger-associated molecular patterns* (DAMPs) ili alarmini, a mogu potjecati iz jezgre [DNK, *high mobility group box-1* protein (HMGB-1), *heat shock* protein], citoplazme (RNK), membrane (S100 protein), izvanstaničnog matriksa (hijaluronska kiselina, heparin-sulfat) ili iz ostalih unutarstaničnih dijelova (mitohondrijska DNK, ATP) (48,49). Zahvaljujući križnoj reaktivnosti PRR s PAMP i DAMP uspostavlja se sustav višestruko povratno pozitivnog odgovora odgovornog za brzo napredovanje globalnoga upalnog odgovora s posljedičnim kliničkim znakovima. Ako se upalno stanje nastavi, obrambeni mehanizam prirodnoga imunološkog odgovora koji služi zaštiti domaćina može dovesti do daljnjega tkivnog oštećenja kao i smanjenja antimikrobne aktivnosti imunološkog sustava, što potiče razvoj oportunističkih infekcija i produbljenje kliničkog stanja (50,51).

1.3.4 *Toll-like* receptori (TLR)

TLR se u grubo mogu podijeliti u dvije podskupine ovisno o staničnoj lokalizaciji i prepoznavanju određenih liganda. TLR 1, 2, 4, 5, 6 i 10 smješteni su na površini stanice i prepoznaju uglavnom lipidne, lipoproteinske i proteinske komponente stanične membrane mikroorganizama. TLR 3, 7, 8, 9 se nalaze uglavnom unutarstanično u endoplazmatskoj mrežici, endosomu, lizosomu te endolizosomu gdje prepoznaju nukleinske kiseline mikroorganizama. TLR4 prepoznaje LPS, TLR2 zajedno s TLR1 ili TLR6 prepoznaje lipoproteine, peptidoglikane, lipoteikolnu kiselinu, zimosan, manan i tGPI mucin (52). TLR5 prepoznaje bakterijske flageline, TLR10 u suradnji s TLR2 prepoznaje ligande *Listeria Monocytogenes* (53). TLR10 također prepoznaje virus gripe tipa A (54). Unutarstanični TLR prepoznaju nukleinske kiseline bakterija i virusa kao i vlastite nukleinske kiseline u autoimunskim bolestima (55). TLR3 prepoznaje virusnu dsRNA, malu interferirajuću RNK te vlastitu RNK nastalu oštećenjem stanica (56-58). TLR7 je izražen na plazmacitoidnim dendritičnim stanicama i prepoznaje jednostruku RNK iz virusa, a RNK streptokoka grupe B prepoznaje kao dio konvencionalnih dendritičnih stanica (59). TLR8 prepoznaje virusnu i bakterijsku RNK (60). TLR9 prepoznaje bakterijsku i virusnu DNK i hemozoin iz nametnika *Plasmodium-falciparum* (61). TLR11 je lokaliziran u endolizosomu i prepoznaje flageline i

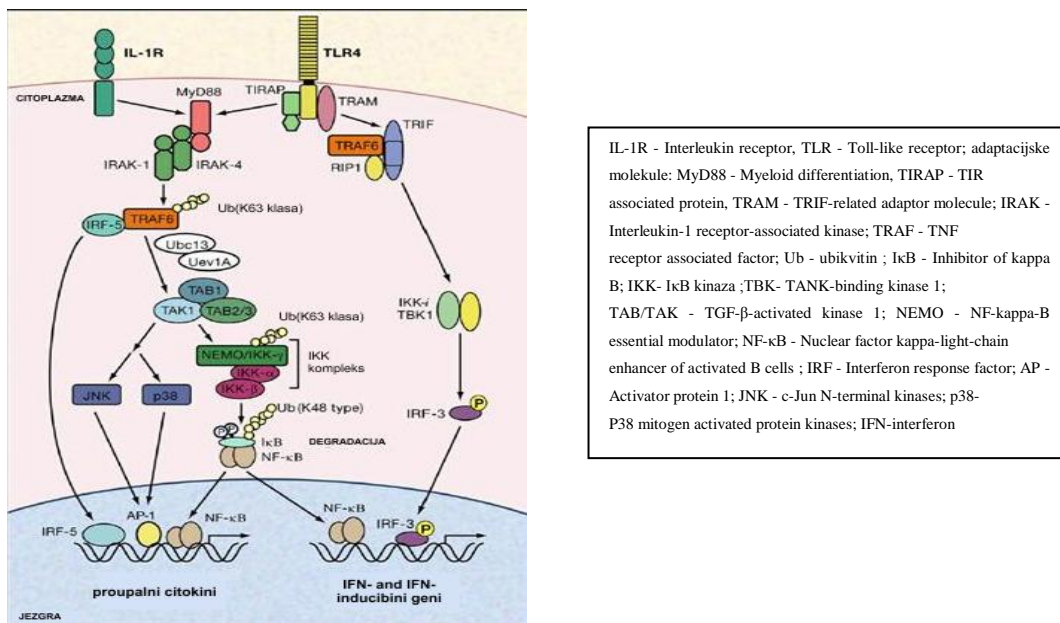
proteinske komponente uropatogene *Escherichia Coli* te molekule slične profilinu *Toxoplasme Gondii* (62,63).

Bez obzira na vrstu TLR i vezanog liganda njihovo povezivanje aktivira signalnu kaskadu koja izaziva indukciju gena uključenih u antimikrobnu obranu domaćina. Svaki TLR sastoji se od izvanstaničnog dijela (ektodomena) s ponavljajućim aminokiselinskim sekvencama bogatima leucinom odgovornim za prepoznavanje PAMP/DAMP molekula. Na njega se nastavlja transmembranski dio te citoplazmatska domena nazvana *Toll/IL-1 receptor* (TIR) koja pokreće signalnu kaskadu. Ektodomena ima oblik potkove putem koje se TLR povezuje s PAMP/DAMP molekulama kao homodimer ili heterodimer zajedno sa koreceptorom kao pomoćnom molekulom (64). Nakon vezanja liganda, TLR-ovi doživljavaju konformacijske promjene koje osiguravaju usmjeravanje TIR–*domain-containing* adaptacijskih molekula prema TIR domeni TLR-a.

Četiri su adaptacijske molekule koje sudjeluju u tom procesu:

1. *myeloid differentiation* (MyD88)
2. *TIR-associated protein* (TIRAP)/MyD88- *adaptor-like* (MAL)
3. *TIR-domain-containing adaptor protein-inducing IFN- β* (TRIF)/*TIR-domain-containing molecule 1* (TICAM1)
4. *TRIF-related adaptor molecule* (TRAM) (65,66).

Aktivacija signalne kaskade i stvaranje proupalnih citokina i interferona tipa I odvija se najvećim dijelom putem MyD88 i TRIF adaptacijskih molekula, Slika 6.



Slika 6. Aktivacija signalne kaskade: IL1R- (preuzeto od Botos I. i suradnika (64)).

1.3.5 MyD88 aktivacija

Stvaranje proupalnih citokina putem TLR-MyD88 ključno je za sve TLR osim TLR3. Nakon stimulacije ligandom i konformacijskih promjena citoplazmatski dio TLR veže se s MyD88 koji stvara kompleks s IRAK kinazama nazvan *Myddosome*. Tijekom formiranja *Myddosome*-a, IRAK-4 aktivira IRAK-1 koji se autofosforilira i otpušta s MyD88. IRAK-1 se udružuje s *RING-domain E3 ubiquitin ligase TRAF6*. TRAF6 zajedno s ubikvitin-konjugirajućim enzimskim kompleksom *UBC13* i *UEVIA* potiče K63 vezanu poliubikvitinaciju samog TRAF6 i TAK1 protein-kinaznog kompleksa. Aktivirani TAK1 dalje aktivira dva različita puta: IKK kompleks-NF- κ B i MAP kinazni put. IKK kompleks kojeg čine podjedinice α i β i regulatorna podjedinica NEMO fosforiliraju NF- κ B inhibitorni protein I κ B α koji podliježe razgradnji, čime se omogućava translokacija NF- κ B u jezgru gdje inducira proupalni genski izražaj. Aktivacija MAP kinazne kaskade potpomaže aktivaciju transkripcijskog faktora AP-1 koji je također odgovoran za prijepis citokinskih gena. Osim ovih, transkripcijski faktor IRF-5 nakon stimulacije TLR ligandom regulira izražaj citokinskih gena (67,68).

1.3.6 TRIF aktivacija

TRIF djeluje međusobno s TRAF6 i TRAF3. TRAF6 dodaje RIP-1 kinazu koja aktivira TAK1 kompleks dovodeći do aktivacije NF- κ B MAP kinaza. TRAF3, međutim, dodaje IKK kinaze TBK1 i IKKi koje zajedno s NEMO fosforiliraju IRF3. IRF3 u obliku dimera prelazi u jezgru gdje inducira izražaj gena za tip I interferone (67,68).

1.3.7 Aktivacija stanica koreceptorima

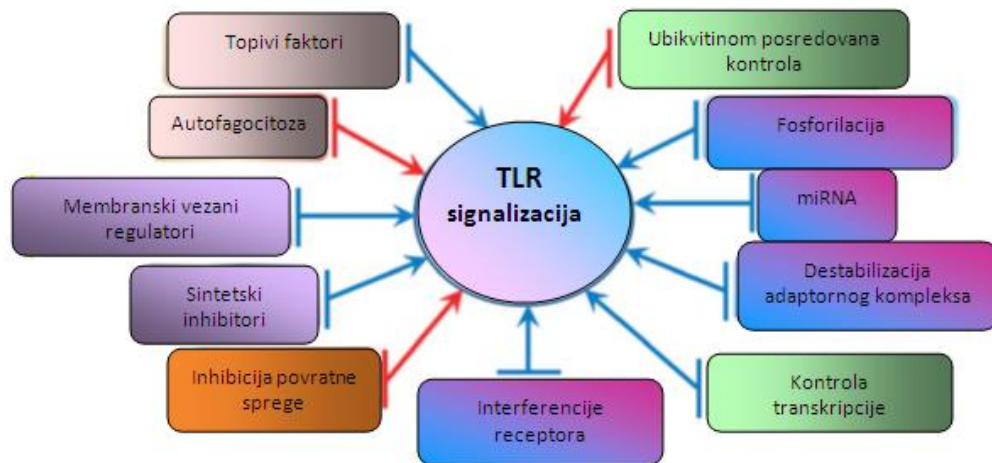
Postoje transmembranske molekule koje također moduliraju signalni put TLR-a. Jedna od njih je CD14, glikoprotein čiji membranski dio čini glikozilfosfatidil-inozitol kojim je usidren u staničnu membranu (69). Ovaj je koreceptor osnova u omogućivanju aktivacije monocita LPS-om i peptidoglikanima iz gram-pozitivnih bakterija (70) kao i aktivaciji fagocitoze apoptotičnih makrofaga (71). Aktivacija TLR4 ovisi o prisutnosti LPS-vezujućeg proteina (LBP) i CD14 koreceptora. Nakon vezanja s LBP-CD14, LPS se prenosi do MD-2 koji je vezan za izvanstanični dio TLR4, slijedi unošenje TLR4 u endosom i pokretanje signalne kaskade TRIF-ovisnim putem (72). CD14 pokreće signalnu kaskadu i putem MyD88 (73). CD14 je također potreban za TLR7 i TLR9-ovisnu signalnu aktivaciju proupalnih citokina (74). Osim membranskog dijela, CD14 ima topljivi dio koji potpomaže u aktivaciji

CD14 negativnih stanica LPS-om. U ovu skupinu stanica spadaju dendritične stanice, fibroblasti, stanice glatkih mišića i krvožilnog endotela (75-77).

TLR aktivacija signalne kaskade dovodi do lučenja proupalnih citokina (čimbenik tumorske nekroze, engl. *tumor necrosis factor*, TNF, interleukini IL-1 i IL-6), kemokina (*monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1), MCP-3 i *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, GM-SCF. TLR koreliraju s transkripcijskom i posttranslacijskom regulacijom antimikrobnih čimbenika kao što su defenzin α i β , fosfolipaza A2 i lizozim. Osim toga, TLR sudjeluju u opsonizaciji mikroorganizama i pomažu u obrani protiv mikroorganizama regulacijom otpuštanja peroksidnih radikala (ROS) i dušikovog oksida (NO). TLR koji su na površini endotelnih stanica neizravno potiču pomak leukocita u upalno područje povećavanjem izražaja E-selektina (molekula adhezije leukocita) i unutarstanične adhezijske molekule (engl. *intracellular adhesion molecule 1*, ICAM-1). Interferoni α i β koji se izlučuju kao posljedica aktivacije TLR-a sudjeluju u obrani organizma od virusa. TLR izazivaju apoptozu sintezom određenih proapoptotičkih čimbenika (*Fas-associated death domain*, *caspase-8*, *protein kinase R*) koji su važan obrambeni mehanizam u borbi protiv nekih neizlječivih patogenih infekcija. Aktivacija antigen-prezentirajućih stanica TLR-om odlučujuća je za mnoge ključne procese koji potiču stečeni imunološki odgovor, kao što su aktiviranje T-limfocita, poboljšanje prezentacije antigena, povećanje izražaja pomoćnih molekula kao što je CD80, supresija regulativne aktivnosti T-limfocita. TLR je također važan u proliferaciji i sazrijevanju B-limfocita tijekom infekcija (78). Općenito, prepoznavanje patogena TLR-om smatra se središnjom točkom pokretanja stečenoga imunološkog odgovora kao druge linije obrane organizma.

Proupalni odgovor organizma štiti domaćina od mikroorganizama, ali nakon uspješnog uklanjanja prijetećeg organizma sustav se mora vratiti u homeostatsko stanje. Ključnu ulogu ovdje imaju protuupalni procesi koji osiguravaju uspostavu homeostaze. Neuspjeh uspostave imunološke homeostaze zbog nekontroliranog izražaja upalnih medijatora može stvoriti sklonost organizma razvoju sepse i septičkog šoka.

1.3.8 Negativna regulacija signalne kaskade



Slika 7. Negativna regulacija TLR signalne kaskade u procesu aktivacije TLR-a patogenom (preuzeto od Anwar i suradnika (78))

Negativna regulacija TLR signalne kaskade odvija se na nekoliko razina, a u njoj sudjeluju brojne molekule, Slika 7., od kojih će biti spomenute samo neke:

Inhibicija topivim oblicima receptora – u prisutnosti topivog oblika TLR2 koji nastaje posttranslacijskom preinakom smanjuje se količina IL-8 i TNF α , što se povezuje s međusobnim djelovanje topivih oblika CD14 i TLR2 (79). Topivi oblik TLR4 također inhibira kaskadu ometanjem spajanja receptora i liganda, što prouzrokuje smanjenje aktivacije NF- κ B i stvaranja TNF (80). Topivi CD14 veže se izravno za LPS i time mijenja signalni obrazac.

Negativna regulacija transmembranskim proteinskim receptorima – engl. *single immunoglobulin IL-1R-related molecule* (SIGIRR) inhibira TLR-om potpomognutu aktivaciju NF- κ B (81), *ST2L* regulira pretjeranu stimulaciju TLR2, TLR4 sprječavanjem stvaranja kompleksa receptora i adaptora (82). *Radioprotective 105 (RP105)* je TLR homolog izražen na različitim antigen-prezentirajućim stanicama, a specifično inhibira signalizaciju potpomognutu s TLR4. On se zajedno s MD-1 veže za ektodomenu TLR4 i sprječava vezanje liganda (83).

Negativna regulacija adaptivnih kompleksa – osnova je ove regulacije blokiranje vezanja adaptivnih molekula na TIR domenu TLR-a. Molekula *TRAM adaptor with Golgi dynamics domain* (TAG) natječe se s TRAM adaptorom za vezanje TRIF-a i tako inhibira

TRIF signalni put. TAG je uključen u internalizaciju TLR4 u endosom kako bi se ondje razgradio (84). *Flightless I – like homolog* ometa kompleks TLR4-MyD88 (85). MAL adaptor inhibira stvaranje IFN- β inducirano s TLR3 tako da se veže s regulatorom njegova stvaranja, *Interferon response factor-7* (IRF-7), čime blokira IRF-7 aktivaciju, tj. stvaranje IFN- β . Pri tome stvaranje IL-6 i TNF- α inducirano s TLR3 ostaje nepromijenjeno (86).

Utišavanje signala procesima ubikvitinacije/deubikvitinacije – ubikvitinacija je primarni mehanizam utišavanja signalne kaskade putem razgradnje potpomognute proteasomom. Brojna istraživanja pokazala su važnost ubikvitinacije i deubikvitinacije u negativnoj regulaciji TLR signalne kaskade. *Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-family member-associated NF- κ B activator* (TANK) veže se na TRAF-vezujući protein i aktivira NF- κ B i IRF. Pokazalo se da nedostatak TANK-a povećava aktivnost NF- κ B u TLR stimulaciji, a njegov nedostatak promiče TRAF6 ubikvitinaciju, što govori u prilog inhibicijskom učinku TRAF-a na signalnu kaskadu (87). *Small heterodimer partner* (SHP) jedan je od inhibitora TRAF6 ubikvitinacije (88). Razred ubikvitin-protein-ligaza koji čine nekoliko proteina olakšava razgradnju MAL i TRAF (89). Deubikvitinirajući enzim A potpomaže cijepanje K63-vezanoga poliubikvitinskog lanca s TRAF3 i potiskuje stvaranje INF tipa I (90).

Docking protein 3 (DOK3) sprječava LPS signalizaciju na makrofagima tako što je podvrgnut proteolizi potpomognutoj ubikvitinom, što ograničava aktivaciju izvanstanične signalno regulirane kinaze (engl. *extracellular signal-regulated kinase*, ERK). Osim ove uloge DOK3 pokazane su i ostale važne uloge ovog proteina u supresiji lučenja citokina i neosjetljivosti stanica na endotoksine (91). Ubikvitin-specifična proteaze 2 i 4 (USP 2 i USP4) negativno reguliraju TRAF6 (92,93)

Fosforilacijom potpomognuta negativna regulacija TLR signalnih proteina – signalizacija putem TLR4 može biti ograničena mitogenom i stresom aktiviranom protein-kinazom (MSK) 1 i 2 koje se aktiviraju u mitogenom aktiviranoj protein-kinaznoj (MAPK) kaskadi te omogućavaju aktivaciju mitogenom aktivirane protein-kinazne fosfataze (engl. *mitogen-activated protein kinase phosphatase*, DUSP1) koja promiče deaktivaciju p38 nakon stimulacije LPS. MSK također aktivira prijemnik gena za IL-10 (94).

Međusobna komunikacija receptora – za održavanje fiziološke funkcije receptori međusobno komuniciraju. Glukokortikoidni receptor selektivno inhibira p38 MAPK i sprječava imunološki odgovor na TLR stimulaciju (95). Hijaluronan receptor, CD44, regulira imunološke odgovore potpomognute s TLR2 putem citoplazmatske domene (96). CD11b

aktivira slezeninu tirozin-kinazu koja fosforilira MyD88 i TRIF i olakšava ubikvitinom potpomognutu razgradnju (97). Sustav komplementa drugi je važan dio prirođenog imuniteta. Pretpostavlja se da komponenta komplementa C5a stimulira stvaranje IL-10 G-proteinom potpomognutom aktivacijom ERK1/2 (98)

Povratna inhibicija TLR signalizacije – indukcija različitih proteina doprinosi negativnoj regulaciji signalne kaskade. Tu se mogu spomenuti TRIM30a, TRIM38 (99,100) Regulacija prijepisa – transkripcijska regulacija podrazumijeva remodeliranje kromatina u upalnim procesima. Transkripcijski faktor NF- κ B suprimira se s Bcl-3, I κ BNS, Nurr1, ATF3 proteinima (67).

Autofagocitna regulacija – nedavno otkriveni protein *nuclear dot protein 52* djeluje negativno na TLR3 signalizaciju prekidom TRIF i TRAF6 puta u odsutnosti proteina A20 (101).

TLR signalna regulacija potpomognuta s mikro-RNK – posljednjih je godina prepoznata važnost nekodirajuće RNK u genskoj regulaciji. Mikro-RNK (miRNA) inducira se TLR-ovima i ima važnu ulogu u kontroli odgovora na TLR stimulaciju. miRNA ima važnu ulogu u povezivanju prirođenoga i stečenog imunološkog odgovora. Brojne miRNA sudjeluju u negativnoj regulaciji TLR signalne kaskade (102).

1.3.9 Citokini u patofiziologiji sepse

Infekcija prouzrokuje lokalnu reakciju koja djelovanjem cirkulirajućih imunoloških stanica i topljivih medijatora može zahvatiti cijeli organizam. Težina infekcije ovisi o jačini aktivacije stanične signalne kaskade koja dovodi do pojačanog stvaranja citokina, što se naziva *citokinska oluja*.

Citokini su relativno mali proteini molekulske mase između 15 i 20 kDa koji se stvaraju i izlučuju kao krajnji proizvod upalne signalne kaskade, a koji autokrinom, parakrinom i endokrinom funkcijom igraju važnu ulogu u imunomodulacijskim procesima. Citokini se mogu podijeliti u nekoliko kategorija:

Interleukine (IL), kemokine, interferone, faktore nekroze tumora i faktore rasta (103).

Interleukini su najvažnija skupina citokina koji se otpuštaju u infektivnim stanjima. Oni obuhvaćaju mnogo različitih proteina koje luče leukociti i endotelne stanice, a koji doprinose staničnoj signalizaciji čime potiču aktivaciju, proliferaciju, smrt i/ili kretanje imunoloških stanica. Interleukini se također mogu podijeliti na proupalne i protoupalne citokine. Za proupalne interleukine smatra se da su odgovorni za staničnu aktivaciju, tkivno

oštećenje i nekrozu, dok protuupalni interleukini imaju ulogu ublažavanja i zaustavljanja upalnog procesa. Među brojnim proupalnim citokinima istraživanim u sepsi od ključne su važnosti skupina IL-1, IL-6, IL-12 i IL-17.

Danas se o citokinima ne govori kao proizvodu jednog gena, već se govori o obitelji citokina kojima su funkcionalna svojstva zajednička i preklapajuća, ali je svaki od njih produkt različitog gena.

1.3.10 Proupalni citokini

Glavni stanični izvor interleukina 1 jesu stanice prirodnoga imunološkog sustava, monociti i makrofagi, a djelomično ih stvaraju i drugi stanični tipovi: epitelne i endotelne stanice te fibroblasti. IL-1 čini 11 članova obitelji od kojih su najviše istraživani IL-1 α i β , IL-18 i IL-33. IL-1 vežu se za svoje receptore IL-1R1 koji vezanjem za koreceptor IL-1RAcP omogućuju provođenje signala. Receptor tipa 2, IL-1R2, ne posjeduje signalnu komponentu pa se vezanjem IL-1 ne provodi signal već ovaj receptor služi samo kao mamac. IL-1 induciraju izražaj gena u okolnim stanicama kao i sebi, što čini pozitivnu povratnu spregu u pojačavanju signalne kaskade. Tako induciraju stvaranje IL-6, IL-8, monocitnog kemoatraktantnog proteina 1 (engl. *monocyte chemoattractant protein 1*, MCP1), ciklooksigenaze 2 (COX2), I κ B α (104). Topive komponente spomenutih receptora čine negativnu regulaciju IL-1 signalizacije i zaustavljaju djelovanje IL-1.

Interleukin 6 (IL-6), još nazvan interferon- β 2 i faktor B stanične stimulacije (BSF-2), plejotropni je interleukin čija je uloga u citokinskoj oluji složena. IL-6 uključuje skupinu molekula koje imaju zajedničku signalnu receptorsku podjedinicu, glikoprotein 130 kDa (gp130). Skupina se sastoji od IL-6, IL-11, onkostatina M, cilijarnoga neurotrofnog čimbenika (engl. *ciliac neutrophilic factor*, CNTF), čimbenika inhibicije leukemije (engl. *leukemia inhibitory factor*, LIF), kardiotrofina 1 (CT-1), citokina sličnog kardiotrofinu (engl. *cardiotrophin-like cytokine*, CTC) i IL-27. Svi su ovi članovi uključeni u regulaciju jetrene reakcije akutne faze, stimulaciju B-stanica, regulaciju ravnoteže između regulativnih i efektornih T-stanica u metaboličkoj regulaciji i mnogim neurotrofnim funkcijama (105).

Pokazano je da su, kao i za IL-1, visoke koncentracije ovih interleukina u sepsi povezane s lošijom prognozom (106). Doprinos IL-6 sepsi povezuje se s aktivacijom komplementa i kapilarnim propuštanjem (107,108).

Koncentracija interleukina 12 (IL-12) također je povećana u sepsi. Glavni su izvor ovog citokina dendritične stanice te fagociti (monociti/makrofagi i neutrofili). IL-12 povezuje

rani prirodni imunološki odgovor sa stečenim jer potiče diferencijaciju T-limfocita u pomoćničke T-limfocite tipa 1 (TH1) i aktivaciju prirodnih stanica ubojica (engl. *natural killer cells*, NK), a kao rezultat te stanice proizvode veliku količinu interferona γ (INF γ) koji regulira funkciju stanica prirodene i stečene imunosti (109). Klinička prospektivna studija na pacijentima sa selektivnim defektom u prijeoperacijskom stvaranju IL-12 koji su bili podvrgnuti velikomu abdominalnom kirurškom zahvatu pokazala je poremećaj obrane organizma protiv poslijeoperacijske infekcije i povećan rizik smrtnosti od sepse (110). Lučenje IL-12 je, poput ostalih proupalnih citokina, regulirano složenim pozitivnim i negativnim regulativnim mehanizmima. Pozitivna regulacija uključuje stimulacijsko djelovanje drugih citokina INF γ i IL-4 te pojačavanje lučenja ovog interleukina putem T-stanične aktivacije. Negativna regulacija ovog citokina uključuje brojne stanične mehanizme. Ključnu ulogu u negativnoj regulaciji ima interleukin IL-10 koji inhibira prijepis gena za IL-12. Također TGF- β (engl. *transforming growth factor- β*) inhibira stvaranje IL-12 destabilizacijom glasničke RNK (p40 mRNK). U negativnoj regulaciji još sudjeluju i glasnička RNK p35, kemokini, C5a komponenta komplementa te G-protein (109).

Interferoni (INF) se dijele u tri glavna tipa sukladno receptorskoj specifičnosti:

Tip I – INF α i INF β s receptorima IFNAR1/IFNAR2

Tip II – INF γ s receptorima INF γ R1/INF- γ R2

Tip III - INF λ uglavnom istraživani u virusnim infekcijama.

INF γ je ključan u obrani od unutarstaničnih mikroorganizama, a stvaraju ga NK stanice te NKT stanice kao dio prirodene imunosti. Također ga stvaraju Th1, CD4 i CD8 citotoksične T-limfocitne (CTL) efektorne T-stanice kada se nastavno na prirodni razvije antigen-specifični imuni odgovor (111). INF γ izravno ili neizravno pojačava regulaciju antigene prezentacije glavnim kompleksima tkivne podudarnosti (MHC) klase I i klase II, upravlja interakcijom leukocita i endotela, djeluje na staničnu proliferaciju i apoptozu, doprinosi aktivaciji makrofaga povećanjem fagocitoze i povećanjem stvaranja proupalnih citokina i snažnih antimikrobnih molekula kao što su reaktivni kisikovi spojevi, dušikov oksid i vodikov peroksid (112). INF γ nastaje na poticaj IL-12 koji vezanjem na svoj receptor na NK stanicama inducira prijepis STAT4 (113).

INF γ potiče upalni odgovor u sepsi, ali mu se stvaranje smanjuje, što se povezuje sa smanjenim imunološkim odgovorom limfocita tijekom imunosupresije (114,115). Nedavno istraživanje pokazalo je da INF γ djelomično poništava imunoparalizu, što ga identificira kao terapijski potencijalnu opciju u liječenju sepse (116).

Kemokini su mali molekularni ligandi 8-12 kDa koji vezanjem na pripadajuće stanične receptore omogućavaju kretanje stanica i njihovo pozicioniranje tijekom razvoja, homeostaze i upalnih procesa. Kemokini koordiniraju međusobno djelovanje imunoloških stanica te čine poveznicu između prirodnoga i stečenog imunološkog sustava. Podijeljeni su u četiri skupine ovisno o lokaciji cisteinskog ostaka XC, CC, CXC, and CX3C. Tako CC ligand ima dva skupno vezana cisteinska ostatka, a CX3CL1 ima tri aminokiseline koje odvajaju dva početna cisteinska ostatka. Većina kemokina luči se u izvanstanični prostor gdje ostaju otopljeni ili vezani za neku komponentu izvanstaničnog matriksa te tako stvaraju koncentracijski gradijent. Kemokini svoje djelovanje izražavaju vezanjem za receptore povezane s G-proteinom. Najviše istraženi kemokini u kontekstu infektivnih bolesti jesu MCP-1/CCL2, CXCL8/IL-8, CXCL1/GRO, and CXCL2/MIP2a. Za razliku od ostalih citokina koji imaju utjecaj na mnoge stanice, kemokini su obično stanično specifični. Tako su, na primjer, MCP-1 ili CX3CL1 skoro specifični za monocite, CXCL1 i CXCL2 za neutrofile, a CXCR3 za T-limfocite. Uloga kemokina u patofiziologiji sepse potanko je istražena. Kemokini su odgovorni za oblikovanje i prirodnoga i stečenog imunološkog odgovora. Kemokini osim poticanja leukocitnog angažiranja na mjestu infekcije utječu na izlazak imunoloških stanica iz koštane srži i slezene. Makrofagi, mastociti i dendritične stanice nakon aktivacije PRR-om izlučuju citokine i kemokine koji aktiviraju ostale stanice prirodene imunosti, neutrofile i monocite. Ove stanice slijede koncentracijski gradijent kemokina i premještaju se u područje upale dok istodobno luče svoje citokine i kemokine koji dalje pojačavaju imunološku reakciju i daljnji ulazak stanica na mjesto infekcije. Istodobno se dendritične stanice aktiviraju i premještaju u limfno tkivo gdje pokreću prirodni imunološki odgovor. Nedostatak kemokina i njihovih receptora dovode do tzv. kvazi imunosupresivnog stanja i dovode organizam u stanje povećane osjetljivosti na smrtni ishod prouzročen infekcijom (117,118).

Čimbenici rasta iznimno su važni u patofiziologiji sepse. Hematopoetski faktor stimulacije kolonija (CSF), granulocitno-makrofagni faktor stimulacije kolonija (GM-CSF) i granulocitni faktor stimulacije kolonija predstavljaju neke od najviše uključenih faktora rasta u procesu nastajanja *citokinske oluje* tijekom sepse. CSF zajedno s IL-3 potiče diferencijaciju i proliferaciju stanica mijeloidne loze, čime se pokreće velik broj aktiviranih stanica koje doprinose sintezi citokina i pojačavanju *citokinske oluje*. CSF ima i funkcionalnu ulogu kojom pojačava odgovor na molekule rane faze IL-1 β i TNF- α (119). Nedavno istraživanje pokazalo je da su u sepsi glavni izvor GM-CSF novo otkrivene B-stanice aktivatora prirodnog odgovora (engl. *innate response activator* (IRA)). Pokazalo se da nedostatak aktivnosti ovih

stanica dovodi do nedostatnog uklanjanja bakterija i izazivanja daljnjeg lučenja citokina te razvoja septičkog šoka. Ove se stanice smatraju glavnim braniteljem od bakterijske infekcije (120).

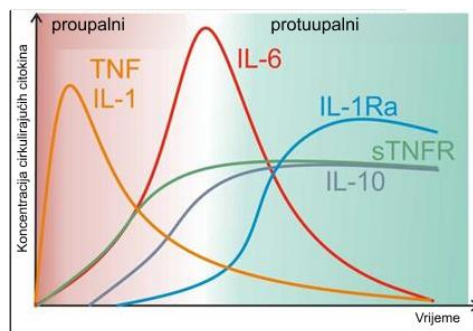
TNF transmembranski je protein (*tmTNF*) veličine 26 kDa koji djelovanjem metaloproteinaze TNF-konvertirajućeg enzima (TACE) i proteina obitelji metaloproteinaze 17 (ADAM17) može otpustiti topivi oblik *sTNF* veličine 17 kDa (121). TNF stvaraju brojni stanični tipovi kao što su monociti, makrofagi, T stanice, NK stanice, neutrofil i mikroglija kao i neimunološke stanice kao što su neuronske stanice ili keratinociti. Oba oblika TNF-a biološki su aktivna, a njihova ravnoteža ovisi o staničnom tipu i njihovoj aktivnosti, aktivnosti TACE te izražaju unutarnjeg TACE inhibitora i tkivnog inhibitora metaloproteinaze (TIMP)-3. TNF veže dva transmembranska receptora: TNFR1 ili CD120a i TNFR2 ili CD120b. TNFR1 je konstitutivno i ubikvitarno izražen na brojnim stanicama dok je izražaj TNFR2 reguliran, a nalazi se na endotelnim, imunološkim (uključujući mikroglija-stanice) i neuronskim stanicama. Izvanstanična domena ovih receptora sastoji se od *pre-ligand assembly domain* (PLAD), domene za vezanje liganda i TACE domene. PLAD kao posrednik u pripremi receptora za međusobno spajanje predstavlja ključnu komponentu u signalnoj kaskadi. Za razliku od izvanstaničnih domena, unutarstanične domene ovih receptora nisu u međusobnoj vezi, što znači da sudjeluju u pokretanju različitih signalnih kaskada. TNFR1 signalizacija djeluje proupalno i apoptotički dok TNFR2 signalizacija ima protuupalnu funkciju kao i različitu imunološku regulaciju. TNFR1 aktiviraju i *tmTNF* i *sTNF* dok se TNFR2 aktivira samo *tmTNF*-om. Membranske komponente obaju receptora podliježu proteolitičkom djelovanju TACE i stvaranju topljivih receptorskih fragmenata, tzv. topivi TNF receptor (*sTNFR*). Ovo je važan autoreglativni mehanizam sprječavanja pretjeranog oštećenja koji može doprinijeti regulaciji TNF-om potpomognutoga staničnog odgovora. Unutarstanično odvajanje topljivih receptora može:

1. neutralizirati aktivni TNF odvajanjem iz cirkulacije
2. smanjiti broj kompetentnih receptora na staničnoj površini i tako prouzročiti prolaznu TNF desenzibilizaciju
3. *sTNFR1* može stvoriti stabilan kompleks s *sTNF*-om i tako zadržati cirkulirajući TNF (121).

Istraživanja su pokazala da TNF ima dvije suprotne funkcije. Pri niskim koncentracijama homeostatskom funkcijom štiti domaćina protiv unutarstaničnih patogena kao što je *Mycobacterium tuberculosis*, te virusa i gljivica (122). TNF je sam, ili u sinergiji s

interferonima, najsnažniji medijator u obrani domaćina, a za učinkovito izvršavanje ovog zadatka potrebna su mu oba receptora. Pri visokim koncentracijama potiče upalu i organsko oštećenje jer se u bolesti uglavnom luči iz makrofaga i monocita sistemski i lokalno iz pogođenog tkiva (123). Putem indukcije citokina i adhezijskih molekula TNF je neizravno uključen u angažiranje upalnih stanica prirodne imunosti kao što su neutrofil, monociti, NK stanice i tzv. antigen-prezentirajuće stanice: nezreli tkivni makrofagi i dendritične stanice. TNF pojačava citotoksičnost imunoloških stanica usmjerenu prema patogenu i djeluje kao stimulator fagocitoze (124). Osim toga TNF-om inducirana NF- κ B signalizacija potrebna je za prevođenje nezrelih regionalnih tkivnih dendritičnih stanica u funkcionalno zrele stanice koje dalje stimuliraju prirodne T-stanice u susjednom limfnom čvoru, a one pokreću antigen-specifični T i B stanični odgovor (125).

Brojne studije pokazale su da je TNF glavni medijator upalnog odgovora u sepsi i septičkom šoku. TNF se luči iz makrofaga u sistemsku cirkulaciju već 30 minuta nakon poticaja LPS-om s vršnom koncentracijom između 60 i 90 minuta (126). Ovo pokreće aktivaciju ostalih medijatora kao što je IL-1. Ovisno o mjestu stvaranja i na koje stanice djeluje TNF ne samo da potiče otpuštanje sekundarnog citokina, IL-6, već upravlja i njegovim stvaranjem. Prekomjerno stvaranje proupalnih medijatora praćeno je stvaranjem povratnih protuupalnih medijatora kao što je TNFR koji uklanja svoj bioaktivni ligand. TNF i IL-1 prvi su citokini u sepsi koji potiču lučenje IL-6. Oba citokina predstavljaju koordinate u proupalnoj fazi nakon koje slijedi smirujuća protuupalna faza u kojoj sudjeluju IL-10, IL-1Ra i sTNFR, Slika 8. (121).



IL- Interleukin; TNF- tumor necrosis facto; IL-1Ra - interleukin receptor; sTNFR - topivi TNF receptor

Slika 8. Kinetika citokina u sepsi (preuzeto od Steeland i uradnika (121))

Znatno povećanje koncentracije endogenog TNF-a može dovesti do razvoja SIRS-a koji pak može evoluirati u MOF. Studije su pokazale da je povećanje koncentracije TNF-a u septičnih pacijenata u pozitivnoj korelaciji sa smrtnim ishodom (127,128).

1.3.11 Protuupalni citokini

Ljudski imunološki odgovor reguliran je vrlo složenom i zapetljanom mrežom kontrolnih elemenata. Tu se osobito ističu protuupalni citokini i njihovi inhibitori koji u fiziološkom stanju služe kao modulatori koji ograničavaju potencijalno oštećujući učinak pretjerane imunološke reakcije. U patološkim stanjima ovi upalni modulatori ili nedovoljno ili pretjerano kompenziraju proupalnu aktivnost dovodeći do inhibicije imunološkog odgovora, čime povećavaju rizik od nastajanja sistemske infekcije.

Najviše istraživani protuupalni interleukini jesu IL-1Ra, IL-4 i IL-10.

IL-1Ra se luči u sistemsku cirkulaciju iz imunoloških ili epitelnih stanica sto puta više nego IL-1 nakon stimulacije LPS-om i kompetitivno veže na IL-1R te tako blokira djelovanje IL-1 α i IL-1 β . Interleukini 4, 6, 10 i 13 stimuliraju stvaranje IL-1Ra (129-131).

IL-4 je plejotropni višefunkcijski citokin koji stvaraju uglavnom aktivirane T-stanice, ali ga mogu stvarati i mastociti, bazofili i eozinofili. Funkcionalno djeluje na T-stanice u smjeru nastanka Th2 i inhibicije Th1 fenotipa limfocita te također regulira staničnu proliferaciju, apoptozu i izražaj brojnih gena u limfocitima, makrofagima, fibroblastima te epitelnim i endotelnim stanicama (132). IL-4 može blokirati ili inhibirati IL-1, TNF α , IL-6, IL-8 i MIP-1 α (133).

Interleukin 10 središnji je protuupalni citokin. Brojne su mu uloge u održavanju imunološke homeostaze. On može blokirati stvaranje proupalnih citokina iz stanica mijeloidne loze, NK i T-stanica. Potentni je inhibitor citokina Th1 uključujući i IL-2 i INF- γ . IL-10 primarno stvaraju CD4 Th2 stanice, monociti i B-stanice. Nakon vezanja na svoj receptor IL-10 inhibira monocitno-makrofagni TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, GC-CSF, MIP-1 α i MIP-2 α (134-136). IL-10 inhibira NF- κ B nakon stimulacije LPS-om. Visoka koncentracija IL-10 povezana je sa sepsom induciranom imunosupresijom (137).

TGF- β pripada skupini čimbenika rasta i važan je protuupalni citokin. Osim što ima važnu ulogu u popravku oštećenja tkiva odgovoran je za imunosupresiju induciranu sepsom (138). *In vitro*, TGF- β potiskuje otpuštanje proupalnih medijatora kao što su IL-1, TNF- α iz monocita i makrofaga i stimulira stvaranje imunosupresivnih faktora kao što su sTNFR i IL-1Ra (139,140). TGF- β također inhibira funkciju T-limfocita tako što smanjuje izlučivanje IL-2 i T-staničnu proliferaciju (141). Neki autori navode da je koristan učinak TGF- β u septičkom šoku povezan s njegovom sposobnošću da inhibira inducibilnu dušikovu oksid-sintetazu (iNOS) i time smanjuje hipotenzivni učinak NO (142).

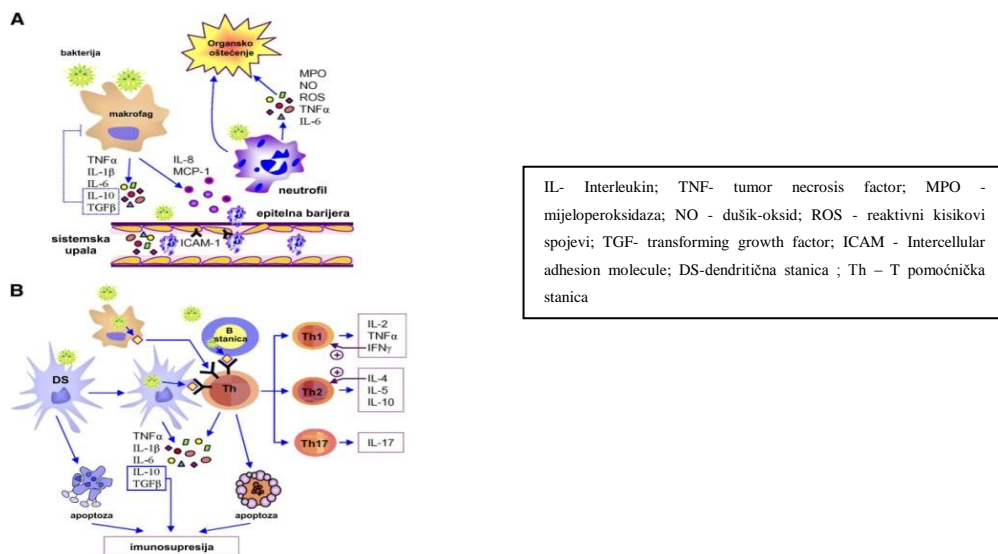
1.3.12 Kinetika citokina

Nakon injekcije LPS-a brzina srčanih otkucaja povećava se unutar 30 minuta i postiže maksimum unutar 2 – 4 sata. Tjelesna temperatura također se povećava za 1 – 2°C unutar 2 – 4 sata. Broj se leukocita povećava, a maksimum postiže 6 sati od ubrizgavanja LPS-a. Broj leukocita uvelike ovisi o dozi, a odražava otpuštanje stanica iz koštane srži te staničnu adheziju i angažiranje u upalno tkivo. Leukocitni odgovor uglavnom je karakteriziran neutrofilijom.

Glavni proupalni citokini (TNF- α , IL-6 i IL-1 β) imaju više-manje sličnu kinetiku s vršnom vrijednosti između 1,5 i 2 sata i brzim padom na bazalne vrijednosti već nakon 6 sati. Protuupalni citokini (IL-10, IL-1Ra, sTNFR) razvijaju se usporedno s proupalnim citokinima. Utvrđeno je da u septičkih pacijenata u imunološkom odgovoru dolazi do pojačavanja ili slabljenja izražaja više od tisuću gena. Proupalni i protuupalni transkripcijski odgovori razvijaju se brzo unutar 48 sati od početka infekcije (103).

1.3.13 Veza između prirodene i stečene imunosti

Nakon početne aktivacije prirodnoga imunološkog sustava i pokušaja uklanjanja patogena, antigen-prezentirajuće stanice aktiviraju komponente stečenoga imunološkog sustava pokretanjem aktivacije limfocita i njihove diferencijacije u odgovarajuće stanične linije koje stvaraju različit profil proupalnih i protuupalnih citokina. Limfociti igraju središnju ulogu u modulaciji odgovora u sepsi svojom sposobnošću interakcije s prirodnim i stečenim imunološkim odgovorom, Slika 9. (143).



Slika 9. Veza između prirodene i stečene imunosti (preuzeto od Aziz M i suradnika (143))

1.3.14 Mehanizam poremećaja funkcije organa u sepsi

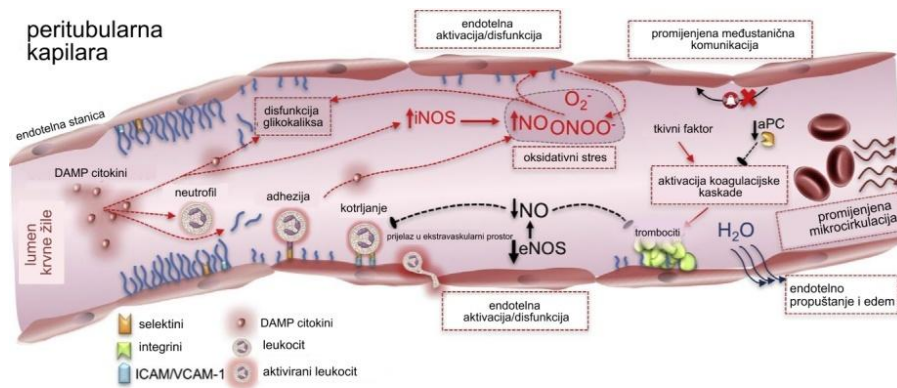
Napredovanje sepse u organsko zatajenje najvažniji je klinički događaj jer je izravno povezan sa smrtnim ishodom. Sepsa je stanje u kojem dolazi do poremećaja homeostaze na staničnoj razini i smanjenja odgovarajućeg odgovora na stres. Organsko zatajenje tijekom sepse uključuje:

1. poremećaje funkcije endotela kao barijere i mikrocirkulacije
2. reprogramiranje staničnog metabolizma
3. komunikacije imunološkoga i neurološkog sustava.

1.3.15 Poremećaj funkcije endotela i mikrocirkulacije

PAMP, DAMP, oksidacijski stres i povećan sadržaj dušikovog oksida (NO) doprinose poremećaju funkcije endotela, međusobne komunikacije endotelne stanice (144), promjenama u glikokaliksi (sloj/obloga glikozaminoglikana na površini endotela krvnih žila koji ima ključnu ulogu u održavanju protoka krvi te ulogu zaštite funkcije endotela kao barijere) (145). Zatim doprinose aktivaciji trombocita, promjenama u adheziji i migraciji leukocita te aktivaciji koagulacijske kaskade i sustava komplementa (146). Prekidanje obloge glikokaliks – endotelne stanice rezultira stvaranjem intersticijskog edema koje je u izravnoj vezi s gubitkom organske funkcije (147). Na poremećaj barijerne homeostaze posebno je osjetljiv glomerularni kapilarni endotel, zatim alveolarni endotel te endotel jetrenih sinusoida (148). U poremećajima mikrocirkulacije od posebnog je značenja NO kao glavni čimbenik regulacije mikrocirkulacije u fiziološkim uvjetima. On se stvara pri pretvorbi arginina u citrulin djelovanjem skupine enzima nitro-oxid sintaze (NOS) te kofaktora NADPH i kisika u endotelu krvnih žila, makrofagima, neutrofilima i drugim tkivima. Tako stvoreni lipofilni NO širi se u susjedne stanice u kojima djeluje kao aktivator citosolne gvanilat-ciklaze dovodeći do stvaranja cikličkog gvanozin-monofosfata (cGMP) (149). U glatkim mišićnim stanicama krvnih žila povećanje koncentracije cGMP-a dovodi do proteinske fosforilacije zbog koje dolazi do opuštanja glatkih mišića i vazodilatacije (150). Postoje tri izoforme NOS: neuronska (nNOS), endotelna (eNOS) i inducibilna (iNOS). Upalni stimulansi kao što su LPS, IL-1 β , MIF ili IL-6 mijenjaju mikrocirkulacijsku homeostazu tako što potiču iNOS na stvaranje NO. Promjene u mikrocirkulaciji prouzrokuju poremećaj difuzije i strujanja krvi čime se znatno povećava heterogenost raspodjele krvi, a ona utječe na tkivnu prokrvljenost, Slika 10. Heterogenost raspodjele krvi dovodi do djelomične kapilarne prokrvljenosti, smanjenja dostave kisika i hranjivih tvari na metabolički zahtjev udaljenih stanica i razvija se

tkivna hipoksija (151). Uz rizik od razvoja tkivne hipoksije, smanjenje brzine lokalnog protoka krvi može pojačati upalni signal, pojačati oksidacijski stres povećanjem razine reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) i reaktivnih dušikovih spojeva (RNS) i prouzročiti daljnje stanično oštećenje (152).



iNOS – inducibilna nitro-oksida sintaza; NO - dušik-oksida; eNOS- endotelna nitro-oksida-sintaza; aPC – aktivirani trombociti;
 ICAM - Intercellular adhesion molecule; VCAM - Vascular cell adhesion protein;

Slika 10. Mehanizam poremećaja funkcije mikrocirkulacije (preuzeto od Pool i suradnika (148))

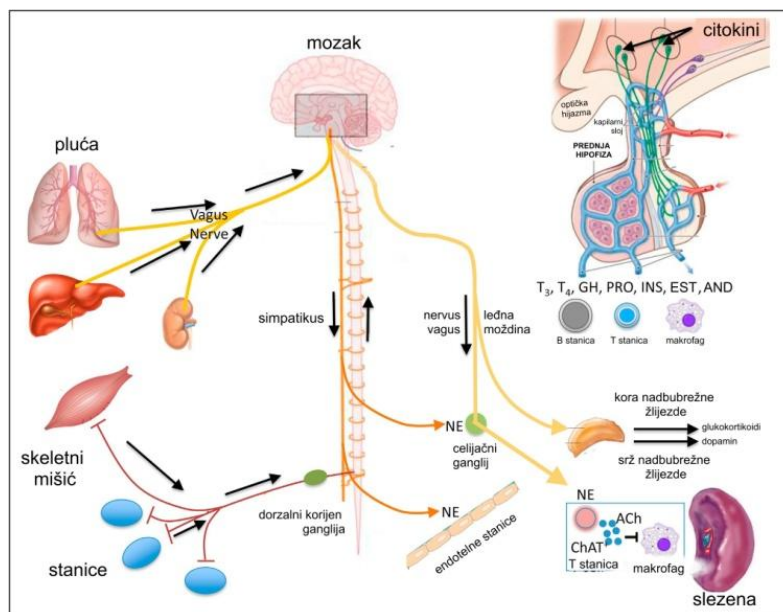
1.3.16 Reprogramiranje staničnog metabolizma

Smanjenje staničnog metabolizma u sepsi smatra se procesom prilagodbe kojim se mijenjaju prioriteta potrošnje energije kako bi se ograničila dodatna oštećenja, održala energetska ravnoteža, spriječilo oštećenje DNK i očuvao stanični sastav (153). U stanju hipoksije potrošnja energije znatno se smanjuje u visokoenergetskim procesima kao što su sinteza proteina i usmjerava se na životno važne procese kao što je održavanje membranskog potencijala (154). Ovi procesi izazivaju prolazno organsko oštećenje tijekom sepsa. Srčani mišić prolazno gubi kontraktilnost, ali ne dolazi do smrti stanica srčanog mišića (155). U plućima se zbog energetske uštede inaktiviraju prijenosnici natrija i kalija te ATP-ovisne transmembranske crpke čime se ometa uklanjanje tekućine iz alveolarnog prostora, što rezultira nastankom plućnog edema (151). U bubrezima se smanjuje aktivnost kanala za kalij i kloride, a to je od velike važnosti za održavanje tubularne funkcije i glomerularne filtracije (156). Jetra smanjuje sintezu proteina i obradu egzogenih i endogenih toksina (157). Stanično metaboličko reprogramiranje kao odgovor na sepsu uključuje pomak u sintezi ATP-a između oksidacijske fosforilacije i glikolize, inhibiciju respiratornog lanca u mitohondrijima, porast autofagocitoze tj. razgradnje nepotrebnih i nefunkcionalnih staničnih komponenata,

mitochondrijsku biogenezu te regulaciju staničnog ciklusa u smjeru njegova zaustavljanja i uštede energije (158,159).

1.3.17 Komunikacija imunološkoga i neurološkog sustava

Sepsa i septički šok ne nastaju samo kao posljedica poremećaja regulacije imunološkog sustava. Središnji živčani sustav (SŽS) iznimno je važna komponenta koja regulira imunološku funkciju. Iako SŽS ne posjeduje limfatički sustav, on sadržava molekule glavnog sustava tkivne snošljivosti (MCH, engl. *major histocompatibility complex*) te dvije barijere: krvno-moždanu i krvno-likvorsku koje osiguravaju zaštitu SŽS-a od prodora infektivnih patogena. SŽS također regulira upalu te odgovor patogena na tkivo domaćina stvaranjem inhibicijskih citokina, hormona i drugih topivih molekula koje imaju sposobnost slanja signala u mozak koji povratno regulira imunološki odgovor (160). Moždana regulacija omogućena je autonomnim živčanim sustavom putem simpatičke i vagusne inervacije, kateholaminskom komponentom ili otpuštanjem neuropeptida i hormona, Slika 11.



T3 - trijodtironin, T4 - tiroksin; GH - hormon rasta; INS - inzulin; EST - estradiol; AND - androgeni; NE - norepinefrin; ACh - acetilolin; ChAT - kolin acetiltransferaza izražena na T stanicima

Slika 11. Neuroendokrini aferentni i eferentni putevi uspostave homeostaze (preuzeto iz Deutschmann i suradnici (48))

1.3.18 Sepsa u kirurških bolesnika

U kirurškoj praksi intraabdominalne infekcije (IAI) predstavljaju infekcije bilo kojeg intraabdominalnog organa sa zahvaćenom potrbušnicom ili bez nje, a dijele se na:

1. nekomplikirane - jedan organ bez perforacije
2. komplikirane - širenje u peritonejsku šupljinu i razvoj peritonitisa.

Peritonitis može biti: primarni ili lokaliziran kada ne postoji perforacija organa, a uzrok je mikrobiološka vrsta koja nije podrijetlom iz probavnog sustava, sekundarni ili difuzni koji je posljedica perforacije, ishemijske nekroze ili probijanja abdominalnih organa s prodorom mikrobiološke vrste podrijetlom iz probavnog sustava, te tercijarni koji predstavlja perzistirajuću ili povratnu infekciju najmanje 48 sati nakon odgovarajućeg zbrinjavanja primarnoga ili sekundarnog peritonitisa te ponovljenu kiruršku intervenciju (161). Prema izvoru mikroorganizama, a time i osjetljivosti na antimikrobnu terapiju IAI se mogu podijeliti na nebolničke i bolničke infekcije (162).

Primjerenim uklanjanjem ili reparacijom upalnog područja, primjenom odgovarajućih antibiotika te uspostavljanjem integriteta anatomskih resekcija većina intraabdominalnih infekcija uspješno se zbrinjava i prolazi bez komplikacija. U situacijama kada infekcija postane nadmoćna i pokrene pretjeran imunološki odgovor, ovisno o stupnju stimulacije, razvija se SIRS s rizikom razvoja hemodinamičke nestabilnosti, organskog zatajenja i smrtnog ishoda (31).

Abdominalna sepsa predstavlja rizik za razvoj komplikacija jer zbog dodatnoga poslijeoperacijskog imunosupresivnog stanja koje nastaje kao posljedica primjene anestetika, hormonske reakcije organizma na stres, krvarenja i transfuzije, reperfuzije tkiva nakon ishemije, te opsežnosti operacijskog zahvata može prijeći u komplikiranu infekciju ili septički šok. Na razvoj komplikacija uvelike utječu osnovna bolest, prisutnost drugih bolesti te životna dob i/ili spol (163).

Bolesnici s IAI poslijeoperacijski se uglavnom zbrinjavaju u jedinicama općega kirurškog intenzivnog liječenja. U kirurških bolesnika traumatsko oštećenje i septičko stanje mogu biti istodobni i slijedivi, a pojedinačno mogu biti udruženi sa složenim upalnim odgovorom. Stupanj hitnosti zbrinjavanja bolesnika ovisi o opsegu infekcije, tj. zahvaćenom organu, brzini razvoja i pogoršanja simptoma, te o osnovnoj fiziološkoj stabilnosti bolesnika. Općenito, bez obzira na stupanj infekcije i njezinu potvrdu potrebno je što prije prepoznati septičko stanje i započeti primjerenu kliničku intervenciju.

1.4 BIOKEMIJSKI BILJEZI UPALE/INFEKCIJE

1.4.1 CRP

C-reaktivni protein (CRP) pripada porodici pentraksina, o kalciju ovisnih ligand-vezujućih proteina diskoidnog oblika. Sastoji se od pet identičnih neglikoziliranih polipeptidnih podjedinica od kojih svaka sadržava 26 aminokiselinskih ostataka (164). Gen za CRP nalazi se na prvom kromosomu (1q21q23). Ime je dobio prema sposobnosti precipitacije polisaharida C bakterije *Streptococcus pneumonia* (165). CRP je prototip reaktanta akutne faze čija koncentracija u serumu može narasti do 1000 puta unutar 48 sati od nastanka infekcije ili tkivnog oštećenja. CRP se uglavnom stvara u jetri i u manjoj mjeri u stanicama masnog tkiva kao odgovor na stimulaciju IL-6, IL-1 i TNF- α (166). Funkcija mu je višestruka, a smatra se da je on modulator prirodne imunosti. Može se vezati za specifične ligande i aktivirati komplement. Modificira funkciju endotelih stanica proupalnim i protuupalnim djelovanjem, inhibira neutrofilnu aktivaciju, djeluje na monocite i makrofage, inhibira aktivaciju i agregaciju trombocita te utječe na funkciju endotelih prastanica (167). CRP u serumu jedna je od najpristupačnijih laboratorijskih pretraga i najviše se primjenjuje u kliničkoj praksi u otkrivanju infekcija i praćenju njihova tijeka (168-171). Najveća mana CRP-a u sepsi jest nedostatak specifičnosti. Povećanje koncentracije CRP-a može upozoravati na upalu i/ili tkivno oštećenje bilo kojeg izvora, kao što subbakterijske ili virusne infekcije, razne upalne reakcije, nekroze, traume ili maligni procesi (172-176). Poslijeoperacijska koncentracija CRP-a može se preklopiti sa sepsom osobito u početnoj fazi kada je rano prepoznavanje sepse od velikog značenja. Zbog njegove dostupnosti i prilično jednostavne interpretacije rezultata mjerenja, CRP je još uvijek najčešće korišten biljeg infekcije/upale bolesnika smještenih u bolnicama uključujući i one s visokim rizikom za razvoj sepse.

1.4.2 Prokalcitonin

Prokalcitonin (PCT) je protein sastavljen od 116 aminokiselina i veličine 13 kDa kodiran genom *CALC-1* na 11. kromosomu. U zdravih osoba stvara se u neuroendokrinim stanicama štitnjače kao kalcitoninski prethodnik i prisutan je u krvi u vrlo niskoj koncentraciji. U stanjima teških upala, sistemskih infekcija, sepsi i stanjima sličnima sepsi koncentracija PCT povećava se čak nekoliko tisuća puta bez povećanja koncentracije kalcitonina i to zbog sinteze u ne-neuroendokrinim stanicama. Na poticaj infekcije i/ili citokina, u ne-neuroendokrinim stanicama dolazi do blokade uobičajene supresije gena *CALC-1* i pojačanog izražaja koja dovodi do porasta koncentracije PCT u cijelom organizmu (177,178). Mjesta

pojačanog izražaja mogu biti jetra, bubrezi, aorta, masno tkivo, jajnici, pluća, debelo crijevo, gušterača, mozak te slezena. PCT ima dug poluživot u plazmi, oko 20 – 36 sati. Istraživanja na primatima pokazala su da se povećanje koncentracije PCT-a nalazi već 3 – 5 sati nakon injekcije lipopolisaharidnog antigena (179), a najveću koncentraciju dostiže 24 – 36 sati nakon izloženosti organizma bakterijama, lipopolisaharidnim komponentama te proupalnim citokinima. Povećanje koncentracije može se naći još i kod opekline, toplinskog udara te inhalacijskog pneumonitisa, dok je povećanje u gljivičnim infekcijama varijabilno, a virusne infekcije ne izazivaju značajan porast ovog biljega (177,178). Postoji niz radova koji pokazuju prihvatljivu dijagnostičku i prognostičku vrijednost PCT-a u razlikovanju bolesnika s neinfektivnim SIRS-om od onih sa sepsom, kao i korisnost ovog biljega u praćenju učinka antimikrobne terapije u pacijenata s intraabdominalnim i drugim infekcijama (180,181). U istraživanjima koja su uspoređivala bolesnike s infekcijom i bolesnike s neinfektivnim SIRS-om pokazano je da je rizik za sepsu bio 88% veći kod povišenog PCT-a, a 84% kod povišenog CRP-a (180). Pokazano je da PCT-om vođena antimikrobna terapija može skratiti razdoblje njezine primjene (182). Prokalcitonin može pomoći kliničarima u procjeni rizika za razvoj sepse i/ili septičkog šoka sukladno koncentracijskoj klasifikaciji. Zbog zadovoljavajuće dijagnostičke točnosti mjerenje PCT-a zauzelo je važno mjesto u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

1.4.3 Presepsin

U posljednje vrijeme sve se više istražuje biokemijski biljeg presepsin (sCD14-ST) ne samo kao rani pokazatelj septičkog stanja već i kao biljeg za praćenje uspješnosti antimikrobne terapije (183-185). Presepsin (sCD14-ST) je peptid veličine 13 kDa koji nastaje proteolizom topivog dijela biljega CD14. Biljeg CD14 je površinski koreceptor glikoproteinske strukture mase 53 – 55 kDa čija je membranska komponenta (mCD14) vezana glikozilfosfatidil-inozitolom za membranu stanice, a glavna mu je funkcija vezanje LPS i peptidoglikana iz bakterija ili kompleksa LPS i lipopolisaharid-vezujućeg proteina (LBP) s TLR-ima. Osim membranske komponente postoje i dvije topive komponente koreceptora (sCD14) različite veličine, tj. 56 i 48 kDa koje nastaju nakon vezanja CD14 s LPS-om i/ili kompleksom LPS-LBP. Manji oblik veličine 48 kDa nastaje djelovanjem proteaza na membranski dio, a drugi, veći od 56 kDa nastaje unutarstanično i izravno se otpušta iz stanice, tzv. proteazno neovisnim putem (186,187).

Vežanjem LPS-a na CD14 aktiviraju se TLR-i koji pokreću signalne putove stanične aktivacije, fagocitozu i stvaranje citokina koji sudjeluju u obrani domaćina protiv patogena (188,189). CD14 nalazi se većim dijelom na monocitima, makrofagima, neutrofilima, B-limfocitima, a ima ga i na hondrocitima, dendritičnim stanicama, te ljudskim epitelnim stanicama crijeva (190). Također je nađeno da hepatociti mogu izražavati biljeg CD14 i to osobito za vrijeme endotoksemija (191). Cirkulirajuća koncentracija presepsina mogla bi biti dokaz reakcije organizma na prisutnost patogena. Kinetika presepsina do sada nije puno istraživana. Nedavnim ispitivanjem pokazano je da se presepsin može detektirati već jedan sat nakon izlaganja stanica LPS-u s vršnom koncentracijom u trećem satu (192). Poluživot presepsina u plazmi je oko 4 – 5 sati. Ove činjenice govore u prilog tome da bi presepsin mogao biti kandidat za specifični biljeg infekcije kao i njezin rani pokazatelj koji bi zahvaljujući kratkom poluživotu u plazmi mogao doprinijeti učinkovitoj i bolje vođenoj terapijskoj intervenciji. Brojne studije istraživale su korisnost presepsina u postavljanju dijagnoze SIRS-a, sepse i septičkog šoka u različitim kliničkim stanjima. Meta-analiza Zhanga i suradnika pokazala je da presepsin kao biljeg sepse ima cjelokupnu dijagnostičku točnost 0,88 (iskazanu kao AUC) te dijagnostičku osjetljivost 83% i dijagnostičku specifičnost 78% s pozitivnim i negativnim omjerom izgleda od 3,9 i 0,21 (193). Multicentrična prospektivna studija pokazala je statistički značajnu razliku u koncentraciji presepsina između bakterijskih i nebakterijskih infektivnih stanja (virusne i gljivične infekcije). Granična vrijednost presepsina od 600 ng/L ima dijagnostičku osjetljivost 88% i dijagnostičku specifičnost 81%, što je usporedivo s graničnom vrijednosti prokalcitonina od 0,5 µg/L (194). Multicentrična randomizirana klinička studija koja je istraživala ulogu presepsina u praćenju razvoja komplikacija pokazala je da su veće vrijednosti presepsina u prvom danu povezane s većom pojavnosti organskog zatajenja (195). Također je istraživana uloga presepsina u praćenju odgovora domaćina na antimikrobnu terapiju. Istraživanje je potvrdilo da bolesnici u kojih primijenjena antimikrobna terapija nije zadovoljavajuća imaju stalan porast presepsina u prvih sedam dana. Ispitivanjem prognostičke točnosti presepsina u svrhu kratkoročnog i dugoročnog ishoda bolesti pokazalo se da je visoka koncentracija presepsina na početku kliničkog stanja predviđatelj smrtnog ishoda. Također se pokazalo da bolesnici s respiratornim infekcijama imaju manje vrijednosti presepsina od onih s infekcijama mokraćnoga i abdominalnog sustava (196,197). Sljedeća studija pokazala je da koncentracija presepsina raste u ranoj fazi sepse i raste s njezinim nadiranjem, a u stanju septičkog šoka postiže svoju najveću vrijednost. Analiza

dijagnostičke točnosti pokazala je da bi granična vrijednost presepsina od 581 ng/L, uz AUC 0,830 mogla razlikovati SIRS i sepsu s osjetljivošću od 65% i specifičnošću od 100%. Kad bi se presepsin dodao MEDS (engl. *Mortality in Emergency Department Sepsis*) sustavu bodovanja dijagnostička točnost znatno raste na 0,950 s porastom osjetljivosti na 85% (198). Slično istraživanje predviđanja teške sepse u septičkih bolesnika upotrebom kombinacije presepsina i MEDS sustava bodovanja pokazala je porast dijagnostičke točnosti s 0,840 na 0,875 (196).

Vrlo važna činjenica o presepsinu jest da se kao mali protein izlučuje bubrežima i da je koncentracija u plazmi ovisna o bubrežnoj funkciji. Smanjenje brzine glomerularne filtracije prouzrokuje lažno povećanje vrijednosti presepsina u plazmi, pa se vrijednosti iznad graničnih u bolesnika s poremećajem bubrežne funkcije moraju interpretirati s oprezom (199,200). Studija Nakamura i suradnika pokazala je da ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji presepsina između septičnih i neseptičnih oliguričnih bolesnika [stadij prema RIFLE (engl. *Risk, Injury, Failure, Loss, and End-stage Kidney*) kriterijima za akutno bubrežno oštećenje] (200). Također, nedavna studija smatra presepsin vrijednim biljekom infekcije i sepse, međutim dijagnostička točnost nije se pokazala boljom u usporedbi s biljekom prokalcitoninom (201).

1.5 HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Kombinacija presepsina, PCT, CRP i SOFA sustava bodovanja imat će veću ukupnu dijagnostičku točnost za ranu dijagnostiku sepse od samog SOFA sustava.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

2.1 Glavni cilj istraživanja:

1. Ispitati može li dodavanje presepsina, PCT-a i CRP-a početnom SOFA sustavu bodovanja poboljšati postavljanje dijagnoze sepse u hitnih abdominalnih kirurških pacijenata.

2.2 Specifični ciljevi:

1. Odrediti granične vrijednosti presepsina, prokalcitonina i C-reaktivnog proteina kod kojih je osjetljivost za sepsu nakon dodavanja početnom SOFA sustavu bodovanja $\geq 95\%$, a specifičnost najveća moguća pri toj osjetljivosti.
2. Odrediti regresijske koeficijente kojima je potrebno pomnožiti tri ispitivana biljega (presepsin, PCT i CRP) da bi njihova dijagnostička vrijednost nakon dodavanja SOFA sustavu bodovanja bila najveća.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Ustroj istraživanja i etička načela

Provedeno je primijenjeno opservacijsko presječno istraživanje s ciljem oblikovanja dijagnostičkog modela. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb i Povjerenstva za etičnost eksperimentalnog rada Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. Svakom ispitaniku obrazložio se protokol istraživanja, očekivani rizici i koristi te se dao na potpis obrazac informiranog pristanka kojim su potvrdili dobrovoljno sudjelovanje u istraživanju. Studija je osmišljena i provedena u skladu s Helsinškom deklaracijom.

3.2 Mjesto i vrijeme provođenja

Istraživanje je provedeno u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku i Zavodu za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje kirurških bolesnika Kliničkoga bolničkog centra Zagreb.

3.3 Ispitanici

Prema zadanim ciljevima, a uz statističku snagu testa od 80%, potreban broj ispitanika izračunan je iz podataka autora Yang i suradnika upotrebom programa PASS 14 Power Analysis and Sample Size Software (2015), NCSS, LLC, Kaysville, Utah, SAD (197). U istraživanje su bila uključena 72 bolesnika s dijagnozom akutnog abdomena koji su podijeljeni u dvije skupine:

1. 36 sa sepsom
2. 36 bez sepse s ili bez infekcije (kontrolna skupina).

Kriteriji uključivanja pacijenata u istraživanje bili su: dob između 50 i 80 godina zbog visokog rizika ove populacije za razvoja kirurške sepse, dijagnoza akutnog abdomena prouzročena jednim od sljedećih patofizioloških procesa: upalni proces u probavnom sustavu, opstrukcija crijeva, ileus, dehiscencija operacijske rane ili crijevne anastomoze te organska perforacija (202). Zbog dodatne modulacije funkcije imunološkog sustava kriteriji isključivanja bili su: primjena imunosupresivne i/ili citostatske terapije te patološka stanja hemato-onkološke etiologije.

Svi bolesnici bili su podvrgnuti hitnom operacijskom zahvatu te nakon operacije primljeni u Jedinicu intenzivnog liječenja kirurških bolesnika (JIL). Uzorak pacijenata biran je susljedno (*engl. consecutive*) prema redoslijedu dolaska u Jedinicu intenzivnog liječenja kirurških bolesnika (JIL). Prijam u JIL ovisio je o komorbiditetima, zatečenom intraoperacijskom stanju, hemodinamičkoj stabilnosti bolesnika tijekom kirurškog zahvata te općem stanju bolesnika. Prije samog operacijskog zahvata svaki je bolesnik dobio standardnu

terapiju antimikrobne profilakse, tj. kombinaciju metronidazol/cefazolin ili metronidazol/ciprofloksacin.

3.4 Metode

Svim su bolesnicima izmjereni sljedeći parametri u uzorcima krvi:

1. Litij-heparinizirana plazma (Vacuette, Greiner, Bio-one; Kremsmuenster, Austrija):
 - a. Presepsin – nekompetitivna metoda kemiluminescencije koja koristi MAGTRATION[®] tehnologiju (magnetske čestice) (Mitsubitshi, Tokijo, Japan). U prvoj inkubaciji anti-presepsin poliklonska protutijela obilježena alkalnom fosfatazom i anti-presepsin monoklonska protutijela koja su vezana na magnetske čestice vežu se za presepsin iz plazme stvarajući komplekse. Protutijela koja se nisu vezala uklanjaju se upotrebom MAGTRATION[®] tehnologije. U drugoj inkubaciji dodaje se kemiluminescentni substrat koje enzimskom aktivnošću alakalne fosfataze stvara luminescenciju. Intenzitet luminescencije proporcionalan je koncentraciji presepsina u uzorku.
 - b. PCT – metoda elektrokemiluminescencije (Roche, Bazel, Europa) . U prvoj inkubaciji biotinizirano monoklonalno PCT-specifično protutijelo te monoklonalno PCT-specifično protutijelo obilježeno rutenij-kompleksom reagiraju s PCT-om iz uzorka stvarajući komplekse. U drugoj inkubaciji stvoreni kompleksi vežu se za mikročestice obložene streptavidinom putem biotin-streptavidin interakcije. U mjernoj jedinici mikročestice se magnetski vežu za površinu elektrode. Primjenom napona na elektrodu inducira se kemiluminiscentna emisija čiji intenzitet se mjeri fotomultiplikatorom.
 - c. CRP – metoda imunoturbidimetrije (Roche, Bazel, Europa). Uzorak plazme inkubira se s anti-CRP antitijelima koja su vezana na lateks mikročestice pri čemu se stvaraju kompleksi antigen-antitijelo. Aglutinacija nastala vezanjem protutijela i antigena (CRP) mjeri se turbidimetrijski.
 - d. Kreatinin – enzimskom metodom s kreatininazom slijediva prema IDMS-u (engl. *isotope dilution mass spectrometry*) (Roche, Bazel, Europa). Kreatinin iz uzorka plazme se djelovanjem enzima kreatininaze, kreatinaze

- i sarkozin oksidaze pretvara u glicin, formaldehid i vodikov peroksid. Vodikov peroksid reagira s HTIB i 4-aminofenazonom uz enzim peroksidazu čime nastaje kromogeni kinonimin. Intenzitet nastalog kromogena koji se mjeri fotometrijski direktno je proporcionalan koncentraciji kreatinina u uzorku.
- e. Ukupni bilirubin – kolorimetrijska diazo-metoda s 3,5 diklorfenil-diazonium-tetrafluoroboratom (DPD) (Roche, Bazel, Europa). Ukupni bilirubin iz plazme se u prisustvu odgovarajućeg otapala veže s diazonij ionom u vrlo kiselom mediju. Intenzitet crvene azo boje koja se stvara direktno je proporcionalan koncentraciji ukupnog bilirubina
 - f. eGFR – formulom CKD-EPI (engl. Chronic Kidney Disease Epidemiology *Collaboration*) procjenjena je brzina glomerularne filtracije prema preporučenoj formuli CKD-EPI Creatinine eGFR (2009) National Kidney Foundation.htm.
2. EDTA puna krv (Vacuette, Greiner, Bio-one; Kremsmuenster, Austrija):
 - a. Trombociti (Sysmex, Tokijo, Japan) – DC metoda hidrodinamičkog fokusiranja na hematološkom brojaču. Trombociti u struji tekućine prolaze pojedinačno kroz centar aperture, stvaraju otpor i električni signal koji je proporcionalan njihovom volumenu. Stanice se prikazuju u histogramu raspodjele prema volumenu u fL.
 3. Litij-heparinizirana arterijska puna krv (RAPIDLyte® arterial blood gas sampling syringes, Emergo Europe, Nizozemska):
 - a. Parcijalni tlak kisika (pO_2) – amperometrijska metoda pomoću elektrode koja se sastoji od platinaste katode i srebrne anode te elektrolitne otopine i membrane polupropusne za plin (Siemens, Erlangen, Njemačka). Između anode i katode održava se konstantni napon. Kada kisik iz uzorka prođe kroz polupropusnu membranu u otopinu elektrolita, na katodi dolazi do njegove redukcije i prijelazu nastalih elektrona na anodu gdje oni oksidiraju srebro. Ovim procesom mijenja se struja (protok elektrona) između dviju elektroda. Količina reduciranog kisika direktno je proporcionalna broju elektrona stvorenih na katodi. Mjernjem promjene struje između dviju elektroda određuje se sadržaj kisika u uzorku krvi bolesnika.

Prema rutinskom protokolu JIL-a pO_2 se određivao uz krevet bolesnika odmah po dolasku iz operacijske sale, a zatim najmanje dva puta dnevno tijekom boravka bolesnika u JIL-u ovisno o kliničkom stanju. Određivanje parcijalnog tlaka kisika provodilo se na uređaju RapidLab 1265 (Siemens, Erlangen, Njemačka). Krv za rutinsku laboratorijsku obradu uzorkovana je unutar 12 sati poslijeoperacijski. Unutar četiri sata od uzorkovanja uzorci su dostavljeni i obrađeni u laboratoriju. Prijeanalitička obrada obuhvaćala je centrifugiranje na 2000g tijekom 10 minuta. U dobivenom uzorku plazme napravljene su pretrage CRP, kreatinin i ukupni bilirubin. Za pretrage PCT i presepsin odvojeni su alikvoti uzorka koji su pohranjeni na temperaturu $-20^{\circ}C$ do trenutka analiziranja, a najduže do devet mjeseci (prema uputama proizvođača). Broj trombocita mjereno je u punoj krvi na hematološkom brojaču Sysmex XE5000 (Sysmex, Tokijo, Japan). CRP, kreatinin, bilirubin i prokalcitonin mjereni su na analitičkoj platformi Cobas ce6000 (Roche, Bazel, Europa). Presepsin je mjereno na imunokemijskom uređaju Pathfast (Mitsubishi Tokijo, Japan).

U svrhu praćenja promjene SOFA sustava bodovanja taj je sustav računano uporabom *on-line* kalkulatora (203) i to:

1. po dolasku bolesnika u JIL – početna SOFA (*i*SOFA)
2. svakih 24 sata kroz najviše pet dana.

Za postizanje specifičnih ciljeva ovog istraživanja korišten je izračunano početno SOFA sustav bodovanja.

SOFA sustav bodovanja opisuje slijed komplikacija u bolesnika koji su u kritičnom stanju kroz određeno vrijeme. On predstavlja kvantitativni opis stupnja poremećaja organske funkcije. Stupanj poremećaja funkcije 6 sustava: respiratornog, kardiovaskularnog, neurološkog, jetre i bubrega te sustava zgrušavanja krvi, pojedinačno se boduje s 1 do 4 boda ovisno o definiranim vrijednostima odgovarajućih parametara. Respiratorni sustav evaluira se temeljem smanjenja sadržaja kisika u krvi i potrebom za respiratornom potporom. Stupanj poremećaja kardiovaskularne insuficijencije procjenjuje se temeljem smanjenja vrijednosti središnjeg arterijskog tlaka i potrebom za primjenom vazoaktivnih lijekova. Za procjenu stupnja poremećaja neurološkog sustava koristi se Glasgow koma sustav bodovanja (engl. *Glasgow Coma Score*), a smanjena vrijednost bodova ukazuje na teži poremećaj neurološke funkcije. Poremećaj jetrene funkcija procjenjuje se temeljem povećanja koncentracije bilirubina u krvi bolesnika a bubrežne povećanjem koncentracije kreatinina u krvi i smanjenjem diureze. Poremećaj koagulacijskog sustava se dokazuje sniženjem vrijednosti broja trombocita u krvi bolesnika. Dakle, pogoršanje organske funkcije povećava vrijednost

SOFA. Kada ne postoji poremećaj organske funkcije vrijednost SOFA je jednaka nuli. Maksimalna moguća vrijednost SOFA može iznositi 24 što se povezuje s velikom vjerojatnošću smrtnog ishoda.

3.5 Glavni ishod kliničkog stanja bolesnika

Glavni ishod kliničkog stanja u ovom istraživanju bila je binarna varijabla: dijagnosticirana sepsa ili neinfektivno/infektivno stanje bez dijagnosticirane sepse. Zbog česte pojavnosti sepse u pacijenata podvrgnutih kirurškom zahvatu evaluacija sepse radila se u razdoblju od prvog do petog dana boravka bolesnika u JIL-u. Statistička obrada dobivenih rezultata pokazala je opravdanost odabranog razdoblja: medijan duljine boravka pacijenata u JIL-u bio je za bolesnike sa sepsom šest dana (IQR 3 do 12 dana), a za kontrolnu skupinu dva dana (IQR 1 do 4 dana). Dijagnoza sepse postavljena je sukladno dijagnostičkim kriterijima preporučenim u trećem međunarodnom konsenzusu o definiciji sepse i septičkog šoka (31). Kod svih bolesnika postojanje infekcije bilo je :

1. mikrobiološki dokazano (krv, tjelesna tekućina i/ili kirurški rez)
2. klinički potvrđeno uz mikrobiološki negativan nalaz
3. klinički potvrđeno u slučajevima kada mikrobiološka pretraga nije zahtijevana.

Klinička potvrda infekcije temeljila se na sljedećim čimbenicima: povišena tjelesna temperatura, pozitivan radiološki nalaz, intraabdominalna prisutnost gnoja ili zamućene tekućine te perforacija crijeva i sterokoralni peritonitis.

3.6 Statistička obrada podataka

Statistička značajnost određena na razini $p < 0,05$ i svi intervali pouzdanosti izraženi su na 95-postotnoj razini. U provjeri glavne hipoteze upotrebljavao se jednosmjerni (engl. *one-tail*) test. Normalnosti raspodjela provjerene su Shapiro-Wilkovim testom. Neparametarski testovi korišteni su za podatke koji nisu slijedili normalnu raspodjelu, a rezultati su izraženi kao medijan i interkvartilni raspon (IQR). Neparametarski Mann-Whitneyev test korišten je za uspoređivanje kontinuiranih varijabli. Analiza dijagnostičke točnosti biljega obuhvatila je izračun osjetljivosti i specifičnosti, ukupne točnosti izražene površinom ispod ROC krivulje, pozitivnoga i negativnog omjera izglednosti (engl. *likelihood ratio*). Granične vrijednosti biljega određene su tako da im osjetljivost bude $\geq 95\%$, a specifičnost najveća moguća pod tim uvjetom. Značajnost doprinosa ispitivanih biljega u

modelu sa SOFA sustavom bodovanja u predviđanju sepse ispitana je logističkom regresijskom analizom. Usklađenost modela s empirijskim podacima provjerena je Hosmerovim i Lemeshowljevim testom, a njegova statistička značajnost Omnibus testom. Ukupna neovisna vrijednost modela izražena je Nagelkerkeovim pseudokoeffcijentom determinacije (R^2) te ukupnim udjelom pravilno dijagnosticiranih. Razlika između skupina iskazana kategoričkim varijablama upotrebom dobivenih graničnih vrijednosti ispitana je primjenom Fisherovog egzaktnog testa. Kako dosadašnja istraživanja pokazuju povezanost bubrežne funkcije s koncentracijom presepsina u plazmi ispitana je povezanost njegove koncentracije s bubrežnom funkcijom dvosmjernom Spearmanovom korelacijom biljega i parametara bubrežne funkcije, kreatinina i eGFR-a. Odabir ova dva parametra bubrežne funkcije u skladu je sa smjericama NKF KDOQI™ (Engl. *National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*), *KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury (2012)*. Statistička analiza napravljena je uporabom SPSS statističkog programa, verzija 25 (SPSS Inc, Chicago, IL, SAD) i MedCalc programa, verzija 17.9.7 (MedCalc Software, Ostend, Belgija). Rezultati su prikazani tablično i grafikonima.

4. REZULTATI

4.1 Karakteristike bolesnika i mikrobiološki nalazi

Istraživanje je obuhvatilo dijagnostički homogenu populaciju od 72 bolesnika s postavljenom radnom dijagnozom akutnog abdomena prouzročenog patološkim promjenama u probavnom sustavu. Tablica 3. prikazuje osobitosti ispitivane populacije. Mann-Whitneyev test korišten je za ispitivanje statističke značajnosti između dvije skupine bolesnika za dob i duljinu boravka u JIL-u, a Fisherov test za spol, kliničku dijagnozu i ishod. S obzirom na to da je raspon dobi odabira pacijenata bio uzak, medijan i IQR za dob za obje skupine bolesnika bili su podjednaki. U skupini septičnih bolesnika sedam ih je razvilo septički šok. Nije nađena statistički značajna razlika u broju muškaraca i žena između dvije skupine bolesnika. Najčešće dijagnoze bile su ileus, perforacija i dehiscencija rane/crijevnog spoja, Slika 12. Nađena je statistički značajna razlika u navedenim dijagnozama između dvije skupine bolesnika. Skupina septičnih bolesnika imala je statistički značajno veći broj dijagnoza perforacije/dehiscencije, dok je skupina neseptičnih bolesnika imala statistički značajno veći broj dijagnoza ileusa. Mikrobiološka pretraga nije tražena u polovici skupine bolesnika bez sepsa. U Tablici 4. navedena su mjesta uzimanja uzoraka za mikrobiološku analizu. U obje skupine bolesnika mikrobiološki uzorci najčešće su uzorkovani intraoperacijski (u septičnih 20/32, a u neseptičnih 6/32). U neseptičnih bolesnika mikrobiološka analiza nije tražena u 18 od 32 bolesnika, dok je u skupini septičnih bolesnika mikrobiološka analiza napravljena u 30 od 32 bolesnika. U septičnih bolesnika kod kojih nije postojala sumnja na infekciju pri operacijskom zahvatu, a koji su u kasnijem tijeku bolesti razvili sepsu, uzorci izbora bili su hemokultura (7 od 32) i bris rane (5 od 32). U kategoriji drugih briseva bili su brisevi rektuma ili ždrijela. U skupini bolesnika sa sepsom za dva bolesnika nije tražena mikrobiološka pretraga. Naveći broj mikrobiološki pozitivnih nalaza u obje skupine bolesnika pokazao je prisutnost kombinacije gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Vrijeme boravka u JIL-u bilo je statistički značajno duže u skupini septičnih bolesnika. Nije se pokazala statistički značajna razlika u pojavi smrtnosti unutar 28 dana između dvije skupine bolesnika. U skupini neseptičnih bolesnika jedan smrtni ishod prouzročen je naglim popuštanjem funkcije srca koje se ne povezuje ni s infekcijom ni sa sepsom.

Tablica 3. Osobitosti ispitivane populacije 72 bolesnika

Skupine bolesnika	SEPTIČNI	NESEPTIČNI	Statistička značajnost(p)
N (broj bolesnika)	36/7^a	36	
<i>Starost, godine (min – max.)</i>	69 (56 – 79)	70 (53 – 80)	0,874
<i>Spol</i>			
- Muškarci	22	21	1,000
- Žene	14	15	1,000
<i>Dijagnoza</i>			
- Ileus	10	16	0,018
- Perforacija, dehiscencija	22	9	0,018
- Peritonitis	1	1	/*
- Hernija s uklještenjem	1	3	/*
- Gangrena	1	1	/*
- Akutni kolecistitis	1	4	/*
- Akutni pankreatitis	0	1	/*
- Pankolitis	0	1	/*
<i>Duljina boravka u JIL-u (dani)</i>	6 (1-125 ^b /3-12 ^c)	2 (1-8 ^b /1-4 ^c)	<0,001
<i>Ishod(smrtmost unutar 28 dana)</i>			0,055
DA	7	1 ^d	
NE	29	35	

^aSeptički šok razvio se u sedam bolesnika

^bNajmanja i najveća vrijednost

^cInterkvartilni raspon (25 – 75 percentila)

^dSmrtni ishod prouzročen kardiorespiratornim arestom, bez infekcije i sepse

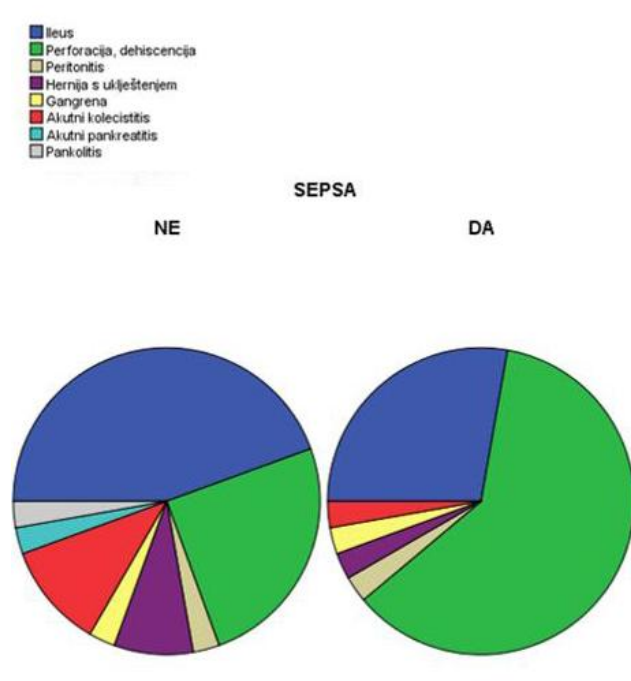
Mann-Whitneyev test korišten je za ispitivanje statistički značajne razlike između dviju skupina ispitanika u godinama duljini boravka u JIL-u, a Fisherov egzaktni test za spol, kliničku dijagnozu i ishod.

JIL = Jedinica intenzivnog liječenja

*Premali broj podataka za statističku obradu

Tablica 4. Mjesta uzimanja uzoraka za mikrobiološku analizu

	SEPSA	
	NE	DA
0-Mikrobiološka pretraga nije zahtijevana	18	2
1-Intraoperacijski uzorak	6	20
2-Hemokultura	0	7
3-Bris rane	2	5
4-Bronhoalveolarni ispirak	1	1
5-Aspirat dušika	4	1
6-Drenažna tekućina	1	0
7-Drugi brisevi	4	0

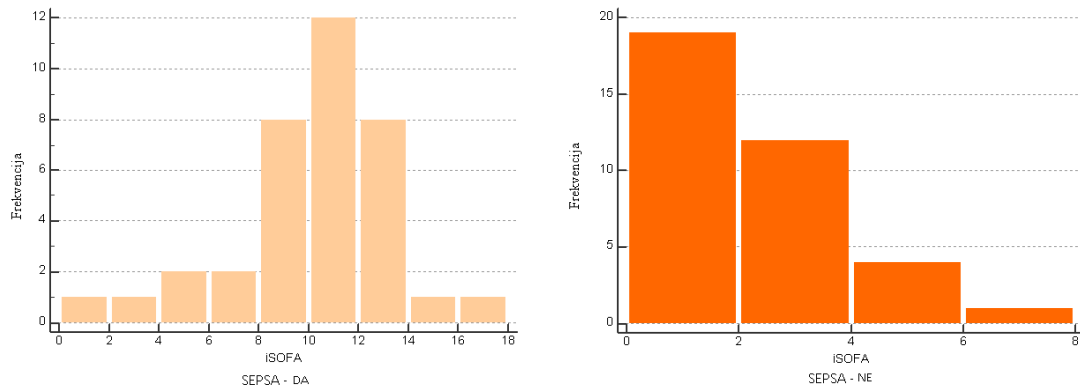


Slika 12. Raspodjela dijagnoza ispitanika

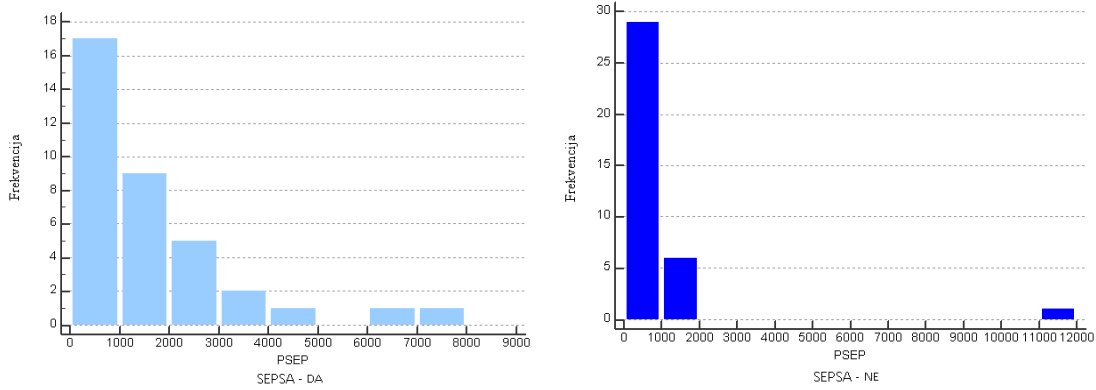
4.2 Usporedba *i*SOFA, presepsina, prokalcitonina i CRP-a te raspodijela rezultata kreatinina i eGFR u dvjema skupinama bolesnika

Shapiro-Wilkovim testom ispitana je slijedivost raspodjele rezultata prema Gusovoj krivulji normalne raspodjele, Slike 13-18. i Tablica 5.. Medijan i interkvartilni raspon rezultata te statistička značajnost razlike za šest parametara u dvjema skupinama bolesnika prikazani su u Tablici 4. Neparometrijskim Mann-Whitneyevim testom pokazana je statistički značajna razlika u rezultatima *i*SOFA, presepsina i prokalcitonina između dviju skupina bolesnika, Slike 19-22.. Statistički značajna razlika dobivena je za rezultate kreatinina i eGFR u navedene dvije skupine bolesnika. Septični bolesnici imali su statistički značajno veće vrijednosti ovih parametara od neseptičnih bolesnika. Razlika je bila osobito izražena za parametre *i*SOFA i presepsin. Vrijednosti CRP-a između skupina septičnih i neseptičnih bolesnika nisu se statistički značajno razlikovale. U skupini neseptičnih u jednog bolesnika izmjerena je krajnje visoka vrijednost presepsina (11089 ng/L) i izrazito povišena vrijednost prokalcitonina (35,64 µg/L). Nije se pokazalo da su ovi rezultati posljedica analitičke greške,

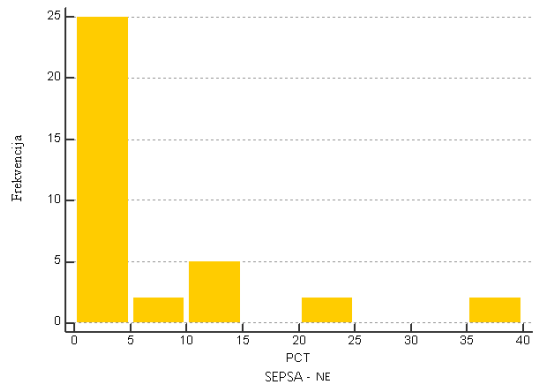
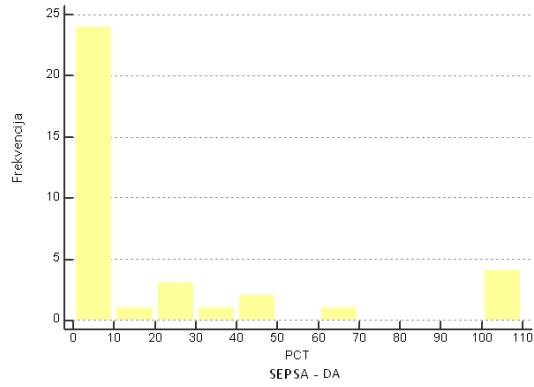
a isključivanje ovih rezultata nije rezultiralo promjenama u statističkoj analizi te oni iz nje nisu isključeni.



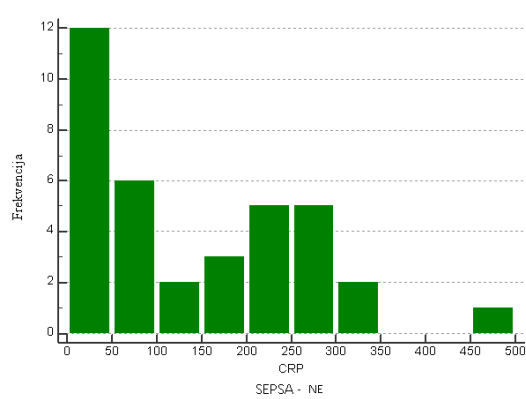
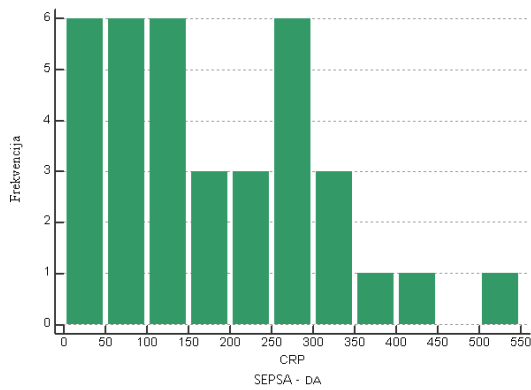
Slika 13. Raspodijela rezultata iSOFA u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse



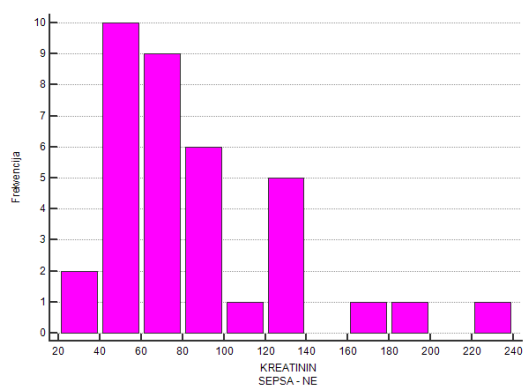
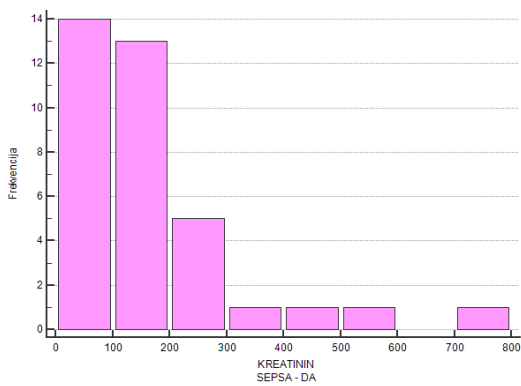
Slika 14. Raspodijela rezultata presepsina u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse



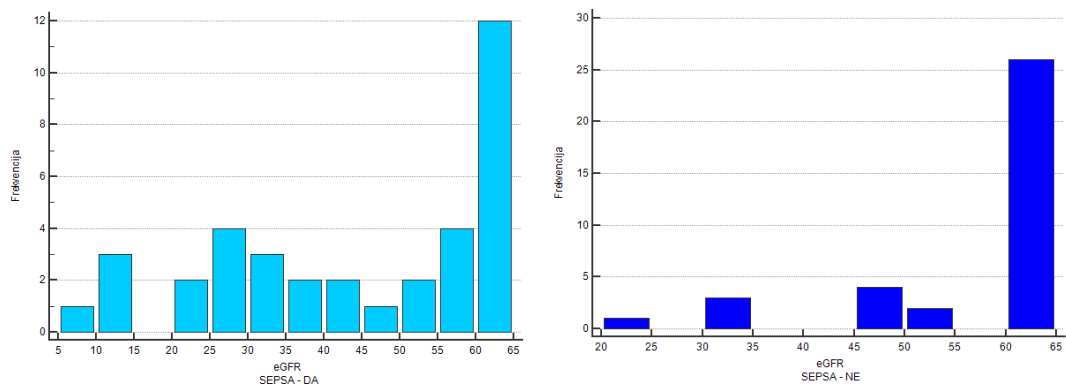
Slika 15. Raspodijela rezultata prokalcitonina u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse



Slika 16. Raspodijela rezultata CRP-a u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse



Slika 17. Raspodijela rezultata kreatinina u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse



Slika 18. Raspodjela rezultata eGFR u grupi bolesnika sa sepsom i bez sepse

Tablica 5. Medijan i interkvartilni raspon za SOFA sustav bodovanja, presepsin, prokalcitonin, CRP, kreatinin i eGFR u skupinama septičnih i neseptičnih bolesnika

Parametar	SEPSA	N	Shapiro-Wilk test	Medijan	IQR (25%-75%)	Minimum	Maksimum	p
iSOFA (bod)	Ne	36	<0,001	1	1 – 2	0	7	<0,001
	Da	36	0,136	10	8 – 12	1	16	
PSEP (ng/L)	Ne	36	<0,001	525,5	269,8 – 696,0	111,0	11089,01	<0,001
	Da	36	<0,001	1121,5	462,5 – 2265,0	342,0	7873,0	
PCT (µg/L)	Ne	36	<0,001	0,75	0,30 – 9,30	0,08	38,2	0,005
	Da	36	<0,001	2,96	1,80 – 23,78	0,14	100,0	
CRP (mg/L)	Ne	36	0,004	101,4	36,5 – 225,9	2,4	450,0	0,120
	Da	36	0,036	151,1	63,4 – 282,3	14,6	515,5	
Kreatinin (µmol/L)	Ne	36	0,001	74,0	52,5 – 100,25	26,0	226,0	0,001
	Da	36	<0,001	121,5	84,5 – 197,0	35,0	756,0	
eGFR (mL/min/1,73 m ²)	Ne	36	<0,001	60	51 – 60	24	> 60	0,001
	Da	36	<0,001	50	28 – 60	6	> 60	

iSOFA . početni SOFA sustav bodovanja

PSEP – presepsin

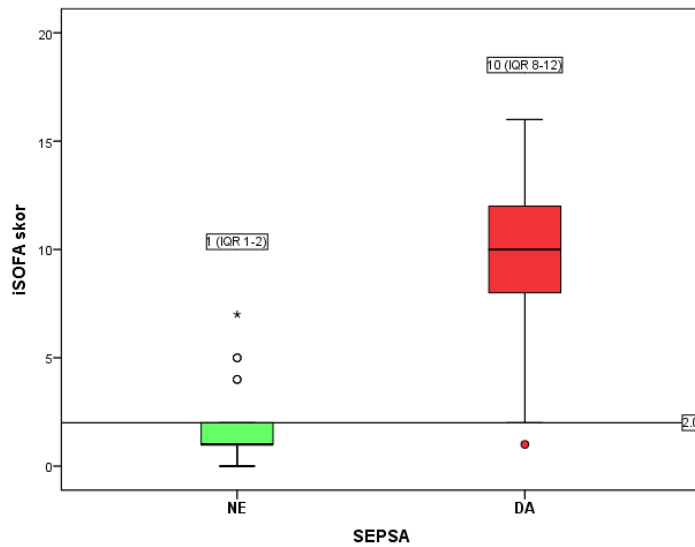
PCT – prokalcitonin

CRP – C-reaktivni protein

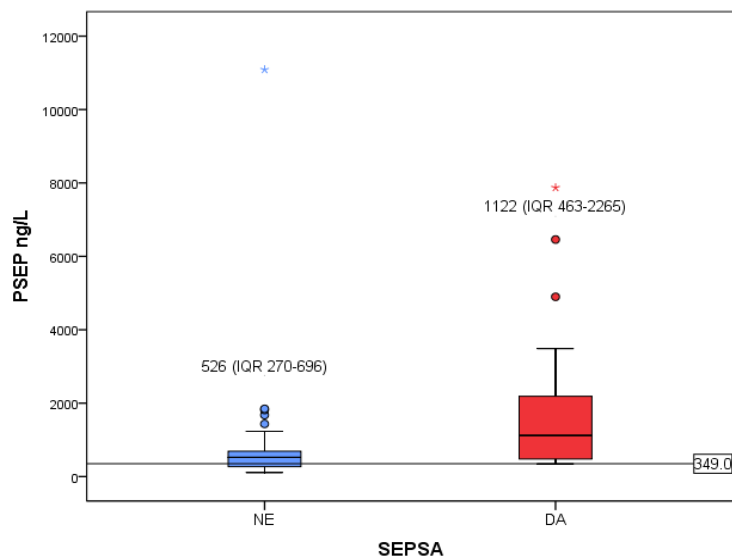
eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije

IQR – interkvartilni raspon

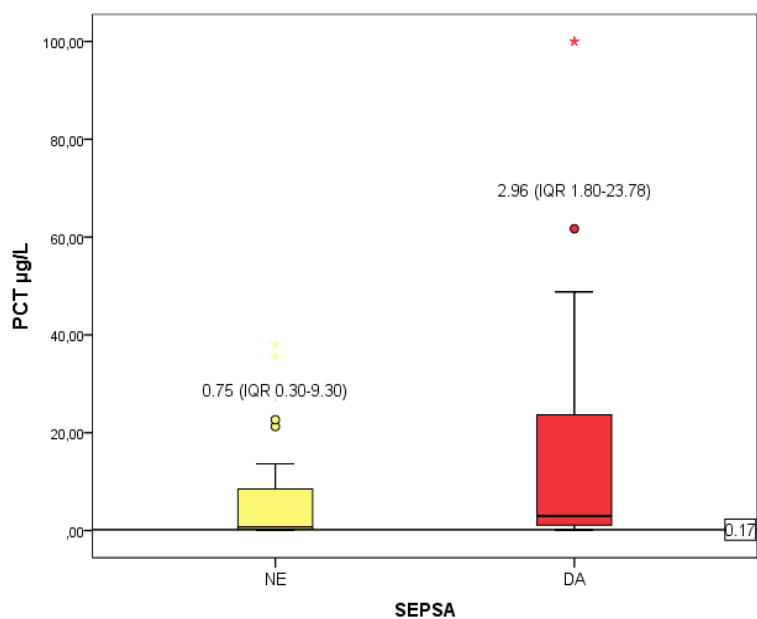
p – statistička značajnost (M-W test)



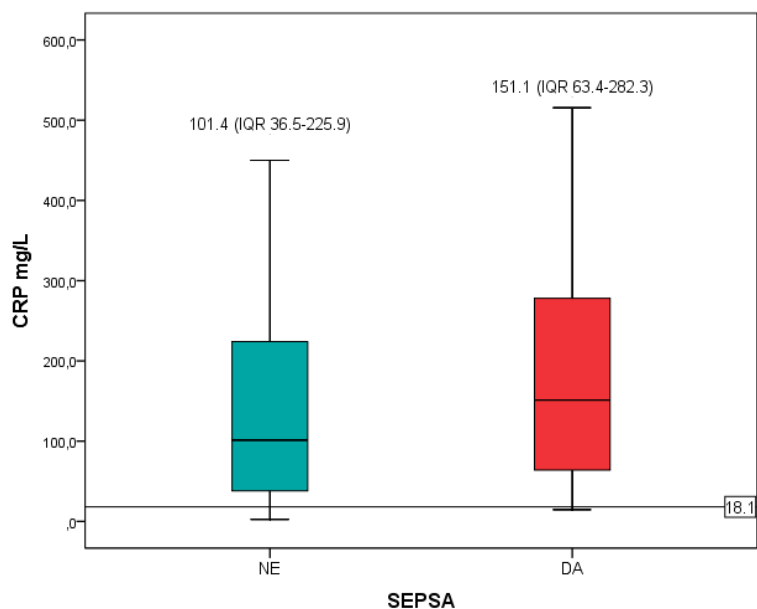
Slika 19. Usporedba iSOFA sustava bodovanja između dviju skupina bolesnika (zeleno – neseptični; crveno – septični); IQR, interkvartilni raspon; *netipična vrijednost; 2.0, granična vrijednost



Slika 20. Usporedba presepsina između dviju skupina bolesnika (plavo – neseptični; crveno – septični) IQR, interkvartilni raspon; * netipična vrijednost; 349.0, granična vrijednost



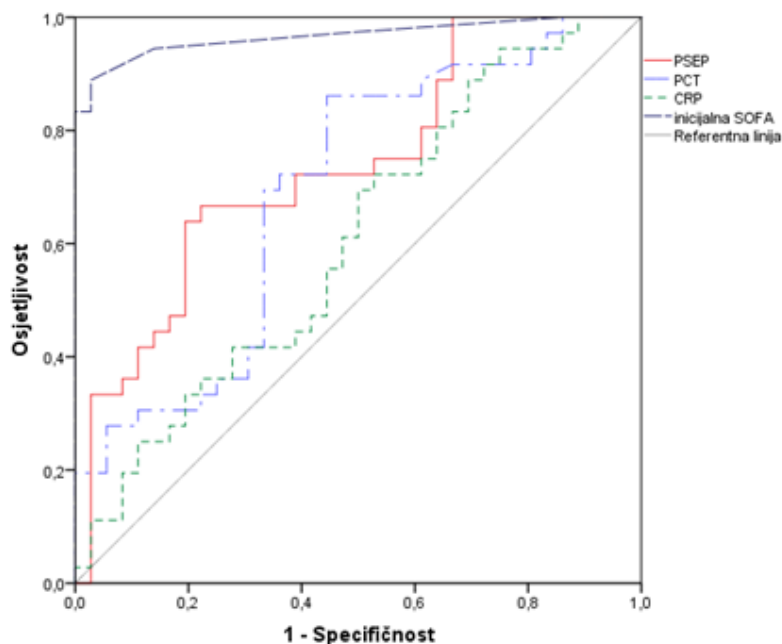
Slika 21. Usporedba prokalcitonina između dviju skupina bolesnika (žuto – neseptični; crveno – septični)
IQR, interkvartilni raspon; * netipična vrijednost; 0,17, granična vrijednost



Slika 22. Usporedba CRP-a između dviju skupina bolesnika (plavo – neseptični; crveno – septični)
IQR, interkvartilni raspon; * netipična vrijednost; 18.1, granična vrijednost

4.3 Dijagnostička točnost i granične vrijednosti presepsina, prokalcitonina, CRP-a i iSOFA

Analizom krivulje osjetljivosti dijagnostičkog testa (engl. *receiver operating characteristic curve*, ROC) ispitana je dijagnostička točnost presepsina, prokalcitonina, CRP-a i iSOFA sustava bodovanja u razlikovanju dviju skupina bolesnika: septičnih i neseptičnih, Slika 23. Dobiveni rezultati pokazuju da postoji statistički značajna razlika u rezultatima iSOFA, presepsina i prokalcitonina između dviju skupina bolesnika. Površina ispod krivulje (AUC, engl. *area under curve*) najveća je za početni SOFA sustav bodovanja, 0,967 (95%CI 0,925 – 1,000), $p < 0,001$. Zatim slijede presepsin s AUC 0,738 (95%CI 0,623 – 0,853), $p = 0,001$ te prokalcitonin s AUC 0,694 (95%CI 0,571 – 0,817), $p = 0,005$. Dobivena površina ispod krivulje za CRP 0,606 (95%CI 0,476 – 0,737), $p = 0,120$ pokazuje slabu dijagnostičku točnost ovog biljega u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika. Granične vrijednosti za razlikovanje septičnih i neseptičnih bolesnika s 95-postotnom osjetljivošću i najvećom mogućom specifičnošću pri ovoj osjetljivosti bile su: za iSOFA 2 boda, presepsin 349 ng/L i prokalcitonin 0,17 $\mu\text{g/L}$, Slika 24-27., Tablica 6.



Slika23. ROC analiza dijagnostičke točnosti presepsina, prokalcitonina, CRP-a i početnog SOFA sustava bodovanja u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika.

Tablica 6. Dijagnostička točnost iSOFA, presepsina, prokalcitonina i CRP-a u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika

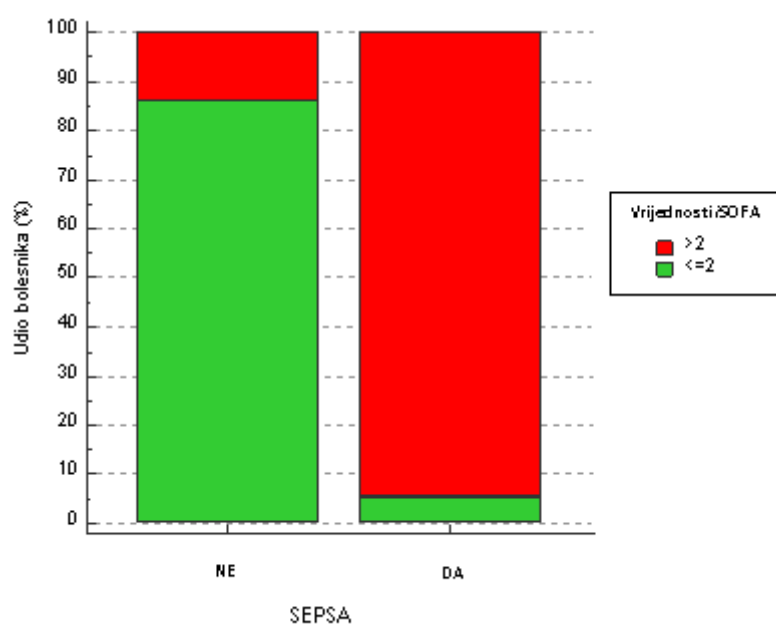
	Razina značajnosti			Granična vrijednost	Osjetljivost	Specifičnost	Pozitivan omjer	Negativan omjer
	AUC	(p)	95% interval pouzdanosti				vjerojatnosti	vjerojatnosti
iSOFA	0,967	< 0,001	0,925 – 1,000	2	0,972	0,528	2,051	0,053
PSEP	0,738	0,001	0,623 – 0,853	349	0,972	0,333	1,460	0,084
PCT	0,694	0,005	0,571 – 0,817	0,17	0,972	0,167	1,167	0,168
CRP	0,606	0,120	0,476 – 0,737	18,1	0,972	0,139	1,129	0,201

iSOFA – početni SOFA sustav bodovanja

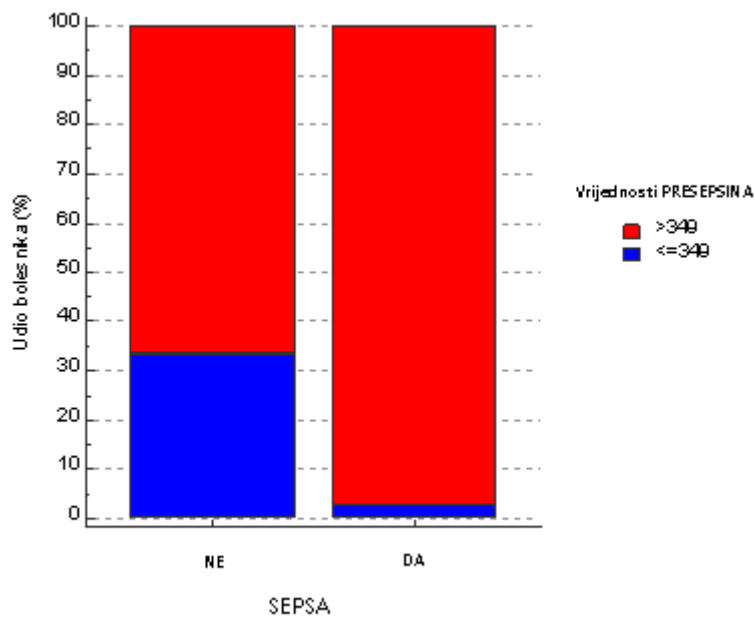
PSEP – presepsin

PCT – prokalcitonin

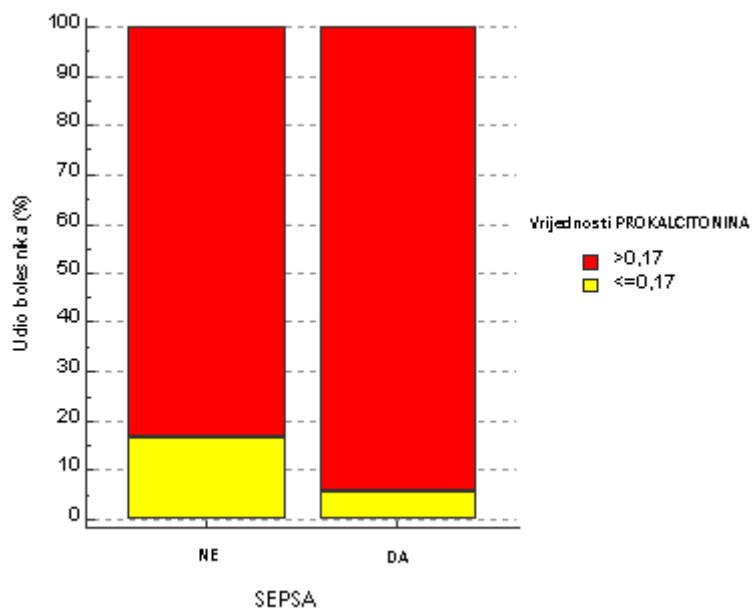
CRP – C-reaktivni protein



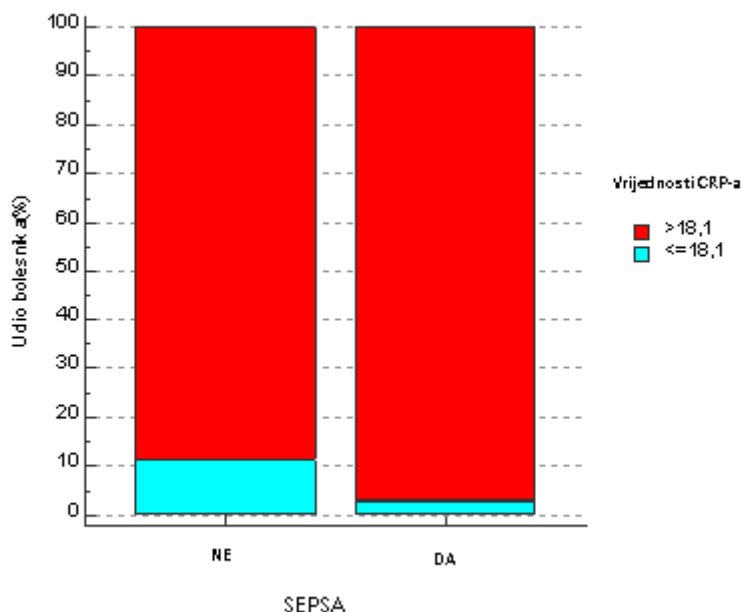
Slika 24. Razlike između skupina prema udjelu bolesnika s vrijednostima iSOFA većim ili manjim od granične vrijednosti 2 boda



Slika 25. Razlika između skupina prema udjelu bolesnika s vrijednostima većim i manjim od granične vrijednosti 349 ng/l



Slika 26. Razlika između skupina prema udjelu bolesnika s većim i manjim vrijednostima od granične vrijednosti 0,17 µg/L



Slika 27. Razlika između skupina prema udjelu bolesnika s većim i manjim vrijednostima od granične vrijednosti 18,1 µg/L

4.4 Multivarijatna logistička regresijska analiza doprinosa presepsina, prokalcitonina i CRP-a početnom SOFA sustavu bodovanja u otkrivanju septičnih bolesnika

Direktnom logističkom regresijskom analizom ispitali smo utjecaj dodavanja upalnih biljega početnom SOFA sustavu bodovanja u predviđanju sepse, odnosno povećanju vjerojatnosti postavljanja dijagnoze sepse poslijeoperacijski u hitnih kirurških bolesnika. Imali smo dva modela:

1. prvi – koji je obuhvaćao samo jednu nezavisnu varijablu, *i*SOFA
2. drugi – koji je obuhvaćao četiri nezavisne varijable: *i*SOFA, presepsin, prokalcitonin i CRP.

Provjera hipoteze primjenom Spearmanove jednosmjerne korelacije prikazana je u Tablici 7. Ispitivanjem međusobne povezanosti svih varijabli (*i*SOFA, presepsina, prokalcitonina i CRP-a) dobivena je statistički značajna pozitivna slaba povezanost između svih parova varijabli osim između CRP-a i početnog SOFA sustava bodovanja. Vrlo niska vrijednost koeficijenta korelacije između početnog SOFA sustava bodovanja i CRP koja je također nije statistički značajna pokazuje da ne postoji međusobna povezanost ova dva parametra. Rezultati početnog SOFA sustava bodovanja najbolje koreliraju s presepsinom. Najveći koeficijent korelacije dobiven je između rezultata prokalcitonina i presepsina te prokalcitonina i CRP-a.

Tablica 7. Međusobna korelacija svih parametara: presepsin, prokalcitonin, CRP i početni SOFA sustav bodovanja

PARAMETRI	Koeficijent korelacije (ρ) i statistička značajnost (p)	PARAMETRI			
		PSEP	PCT	CRP	iSOFA
PSEP	ρ	/	0,366	0,222	0,346
	p	/	0,001	0,031	0,001
PCT	ρ	0,366	/	0,443	0,304
	p	0,001	/	<0,001	0,005
CRP	ρ	0,222	0,443	/	0,023
	p	0,031	<0,001	/	0,423
iSOFA	ρ	0,346	0,304	0,023	/
	p	0,001	0,005	0,423	/

iSOFA – početni SOFA Sustav bodovanja; PSEP – presepsin; PCT – prokalcitonin; CRP – C-reaktivni protein;
 ρ – Spearmanov koeficijent korelacije

Prema rezultatima ispitivanja prikladnosti ovih dvaju modela u predviđanju sepse, tj. razlikovanju septičnih i neseptičnih bolesnika, oba su se modela pokazala statistički značajnima. Rezultati testiranja prikladnosti Omnibus i Hosmer-Lemeshowovim testovima prikazane su u Tablici 8.

Tablica 8. Rezultati prikladnosti obaju modela u predviđanju sepse

<i>Omnibus test</i>	χ^2	Naziv kolone	P
Prvi model (iSOFA)	70,5	1	<0,001
Drugi model (iSOFA i dodani biljezi)	81,4	4	<0,001

<i>Hosmer and Lemeshowovtest</i>	χ^2		P
Prvi model (iSOFA)	1,27	6	0,974
Drugi model (iSOFA i dodani biljezi)	2,46	8	0,963

Rezultati regresijske analize, Tablica 9. (A i B) pokazuju da će upotrebom prvog modela u 92 % bolesnika biti ispravno postavljena dijagnoza sepse. U drugom modelu, koji uključuje tri upalna biljega dodana na početni SOFA sustav bodovanja, udio bolesnika u kojih je ispravno postavljena dijagnoza sepse povećava se na 96%.

Tablica 9. Vrijednost modela u razlikovanju bolesnika sa sepsom i bez nje

A) Prvi model samo s *i*SOFA bodovanjem

		Predviđena modelom		Udio točno dijagnosticiranih (%)	Nagelkerke R ²
		NE	DA		
Promatrana		SEPSA			
		NE	DA		
SEPSA	NE	33	3	91,7	0,832
	DA	3	33	91,7	
Ukupni udio točno dijagnosticiranih 91,7 %					

B) Drugi model s *i*SOFA bodovanjem i biokemijskim biljezima

		Predviđena modelom		Udio točno dijagnosticiranih(%)	Nagelkerke R ²
		NE	DA		
Promatrana		SEPSA			
		NE	DA		
SEPSA	NE	35	1	97,2	0,903
	DA	2	34	94,4	
Ukupni udio točno dijagnosticiranih 95,8 %					

Također je pokazano da u oba modela *i*SOFA sustav bodovanja ima najveći doprinos u modelu, Tablica 10. Promjena *i*SOFA za jednu jedinicu snažno pridonosi omjeru izgleda. Logistička regresijska analiza pokazuje da između biljega presepsina, prokalcitonina i CRP-a jedino CRP statistički značajno doprinosi modelu, stoga jednadžba logističke regresijske analize glasi:

$$\text{logit}(p) = -8,988 + 1,168(i\text{SOFA}) + 0,015(\text{CRP})$$

Rezultati pokazuju da bolesnici s većim početnim SOFA sustavom bodovanja imaju 2,3 puta veći omjer izgleda za sepsu. Kada uz veći početni SOFA sustav bodovanja postoji i povećana koncentracija CRP-a i presepsin, taj se omjer izgleda povećava na 3,2 puta.

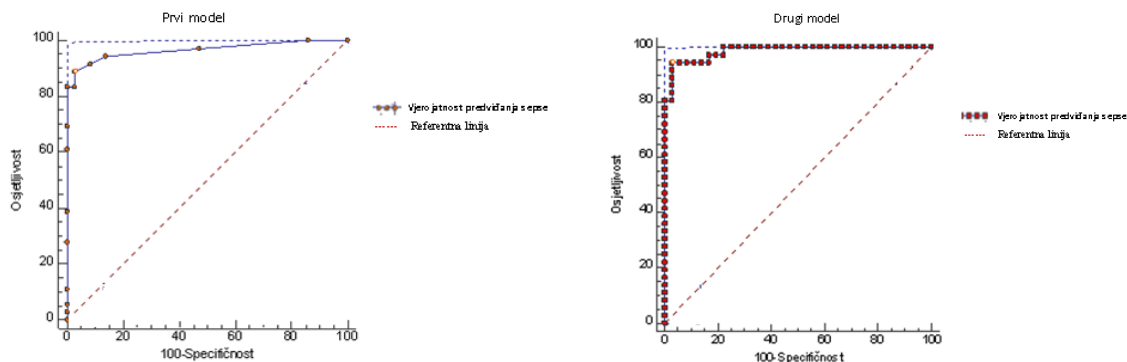
Dobivena jednadžba pokazuje da se vjerojatnost sepse povećava s porastom vrijednosti početnog SOFA sustava bodovanja i porastom koncentracije CRP-a. Primjena jednadžbe ovog modela mogla bi pomoći u empirijskoj procjeni vjerojatnosti sepse u bolesnika koji imaju klinička obilježja istovjetna bolesnicima u ovom istraživanju. Unošenjem vrijednosti početnog SOFA sustava bodovanja i koncentracije CRP-a u jednadžbu može se izračunati vjerojatnost prisutnosti sepse .

Tablica 10. Prediktivna vrijednost prvoga i drugog modela u ranom otkrivanju sepse

PRVI MODEL	B	p	Omjer izgleda
iSOFA	0,835	<0,001	2,304
DRUGI MODEL	B ¹	p	Omjer izgleda
iSOFA	1,168	<0,001	3,217
PSEP	0,00003	0,225	1,000
PCT	-0,016	0,605	0,984
CRP	0,015	0,001	1,015

B-regresijski koeficijent; iSOFA – početni SOFA Sustav bodovanja; PSEP – presepsin;
PCT – prokalcitonin; CRP – C-reaktivni protein;

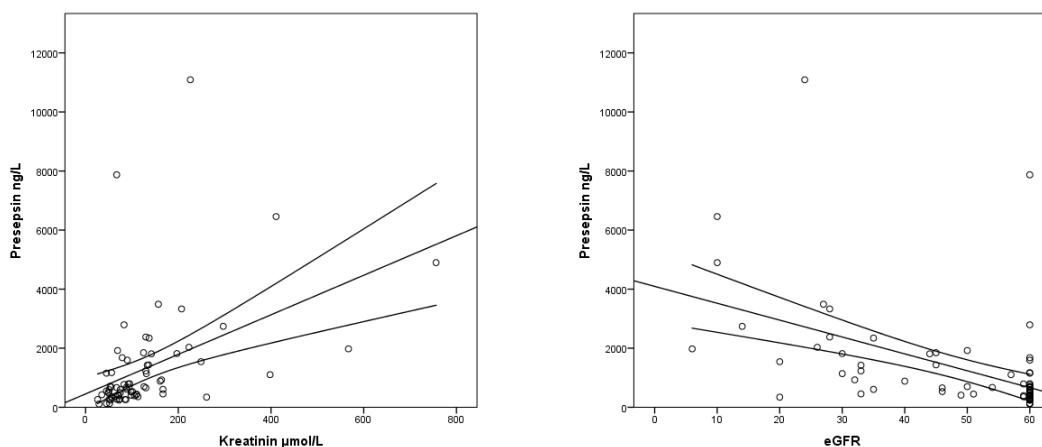
Dijagnostička točnost vjerojatnosti predviđanja sepse upotrebom prvog modela koji je uključivao samo jednu varijablu, početni SOFA sustav bodovanja, iznosila je AUC=0,967. Dijagnostička osjetljivost ovog modela bila je 88%, a specifičnost 97%. Dijagnostička točnost vjerojatnosti predviđanja sepse upotrebom drugog modela koji je uključivao četiri varijable, tj. tri biljega dodana na vrijednosti početnog SOFA sustava bodovanja imala je nešto veću dijagnostičku točnost AUC=0,985. Dobivena je dijagnostička osjetljivost od 94%, a specifičnost 97%, Slika 28.



Slika 28. Dijagnostička točnost vjerojatnosti predviđanja sepe upotrebom prvog i drugog modela

4.5 Korelacija presepsina s biljezima bubrežne funkcije: kreatinin i procijenjene brzine glomerularne filtracije (eGFR)

Analizom povezanosti presepsina s eGFR dobivena je statistički značajna negativna korelacija, Spearmanov koeficijent $-0,593$, $p < 0,001$. Koeficijent korelacije pokazuje negativnu umjerenu povezanost koncentracije PSEP i eGFR što znači da će u nekim slučajevima sa smanjenjem vrijednosti eGFR rasti koncentracija PSEP. Analizom povezanosti presepsina i kreatinina dobivena je statistički značajna umjerena pozitivna povezanost, Spearmanov koeficijent $0,576$, $p < 0,001$. Korelacije su prikazane na slici 29.



Slika 29. Korelacija presepsina s kreatininom i procijenjenom brzinom glomerularne filtracije (eGFR).

5. RASPRAVA

Infekcija i sepsa predstavljaju glavne komplikacije koje se javljaju nakon abdominalnih kirurških zahvata. Infekcije koje nastaju u probavnom sustavu povezane su s većom vjerojatnosti od smrtnog ishoda (29). Organsko oštećenje u sepsi vodeći je uzrok smrti, a u kirurških bolesnika smještenih u jedinicama intenzivne skrbi udio smrtnih ishoda može biti čak do 65% (204). U kirurških bolesnika traumatsko oštećenje i septičko stanje mogu biti istodobni i slijedivi, a svako je od njih udruženo sa složenim upalnim odgovorom. Stupanj hitnosti zbrinjavanja bolesnika ovisi o opsegu infekcije, tj. zahvaćenom organu, brzini razvoja i pogoršanja simptoma te o osnovnoj fiziološkoj stabilnosti bolesnika. Brzo i primjereno zbrinjavanje bolesnika znatno doprinosi smanjenju pobola i smrtnosti. Stoga je rano i pouzdano postavljanje dijagnoze komplikacija intraabdominalnih infekcija u kirurških bolesnika glavno kliničko pitanje. Rana identifikacija bolesnika koji imaju povećan rizik za razvoj septičkog stanja omogućava pravodobno otkrivanje i uklanjanje izvora infekcije te primjenu odgovarajuće antimikrobne terapije kojom se sprječava daljnje napredovanje infektivno-upalnog stanja (205-207).

Iako je prema nedavno revidiranoj definiciji sepse SOFA sustav bodovanja temeljni parametar upostavljanju dijagnoze (31), rutinska primjena biokemijskih biljega upale i infekcije predstavlja nezaobilaznu pomoć u ranom prepoznavanju infekcije i upale, procjeni njezina intenziteta i proširenosti te praćenju učinkovitosti primijenjene terapije. Glavni cilj ovog istraživanja bio je ispitati imaju li prokalcitonin i CRP, kao predstavnici rutinskih biljega upale/infekcije (208), te također presepsin kao predstavnik novije generacije biljega upale/infekcije zajedno sa SOFA sustavom bodovanja dodanu vrijednost u predviđanju i ranom postavljanju dijagnoze sepse u hitnih abdominalnih kirurških bolesnika smještenih poslijeoperacijski u jedinicu intenzivne skrbi kirurških bolesnika. Sukladno specifičnom cilju našeg istraživanja, a to je oblikovanje novog modela za ranu identifikaciju bolesnika kod kojih postoji povećan rizik za razvoj sepse, početni (perioperacijski) SOFA sustav bodovanja postavljen je kao parametar kojemu su pridruženi biljezi upale i infekcije usprkos činjenici da je za postavljanje dijagnoze sepse potrebna odgovarajuća promjena SOFA sustava bodovanja. Prema dosadašnjim spoznajama ne postoji istraživanje koje je objedinilo ova četiri pokazatelja u evaluaciji septičkog stanja u specifičnoj populaciji hitnih abdominalnih kirurških bolesnika.

5.1 Osobitost populacije kirurških bolesnika

Prema *American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program*. (ACS NSQIP) (209) i studiji Moorea i suradnika (202) populacija naših ispitanika predstavljala je visokorizičnu skupinu s obzirom na dob, hitnost kirurškog postupka, kirurške dijagnoze i komorbiditete te poslijeoperacijsko smještanje u jedinicu intenzivne skrbi. Raspon starosti bolesnika u ovom istraživanju bio je od 53 do 80 godina.

Abdominalna sepsa razvija se kao posljedica intraabdominalne infekcije prouzročene kontaminacijom infektivnim materijalom pri crijevnoj perforaciji ili postojanju infektivnog žarišta u probavnom sustavu (205). Komplikacije IAI očekuju se kod bolesnika kod kojih postoji kontaminacija abdominalne šupljine infektivnim materijalom, tj. razvoj peritonitisa. Rizik za smrtnost od IAI kreće se od <1 do 70% iako istraživanja pokazuju da smrtnost s komplikacijom septičkog šoka iznosi u prosjeku 30% (162). Rezultati našeg istraživanja sukladni su s navedenim činjenicama. Zastupljenost komplikacija IAI između skupine septičnih i neseptičnih bolesnika statistički je bila značajna. U skupini septičnih bolesnika većina (22 od 36) je imala dijagnozu perforacije, dehiscencije rane ili spoja odnosno peritonitis. Ileus je bio dijagnosticiran u oko četvrtine bolesnika (10 od 36). U skupini neseptičnih bolesnika većinom su bili bolesnici s dijagnozom ileusa (26 od 36), što znači da nije postojalo prodiranje mikrobiološke flore u abdomen. Kod manjeg je broja bolesnika bila prisutna perforacija, dehiscencija i peritonitis (10 od 36). Akutni kolecistitis bio je dijagnosticiran u četiri bolesnika koji nisu razvili sepsu. Smrtnost u bolesnika sa sepsom bila je veća premda nije bila statistički značajna. S obzirom na to da se radi o malom broju ispitanika ovaj je rezultat statističke beznačajne razlike u smrtnosti između dviju skupina bolesnika očekivan.

Kako je sepsa složeno patofiziološko stanje ne iznenađuje rezultat našeg istraživanja koji potvrđuje da je boravak u jedinici intenzivne skrbi bio duži za pacijente s dijagnozom sepse nego bez ove dijagnoze.

Većina izvanbolničkih IAI (engl. *community-acquired*) predstavlja kombinirane infekcije u kojima uglavnom prevladavaju entero-mikroorganizmi od kojih se najčešće izdvoji gram-negativna *Escherichia coli* te u nešto manjem opsegu druge enterobakterije poput *Klebsiella spp.* i *Pseudomonas aeruginosa*. Anaerobni mikroorganizmi prevladavajuća su mikrobiološka vrsta u donjem dijelu probavnog sustava. U bolesnika s bolničkim IAI (engl. *hospital-acquired*) nešto je manje infekcija prouzročenih *E. coli*, a više s uzročnikom *P.aeruginosa* i *Acinetobacter spp.* Također se nalaze i gram-pozitivni mikroorganizmi,

osobito *Enterococcus spp.* u poslijeoperacijskom razdoblju. Infekcije bakterijom *Staphylococcus aureus* nije čest nalaz, međutim nalaz ove bakterije češći je u bolničkih nego u izvanbolničkih bolesnika (210). U našem istraživanju u skupini bolesnika sa sepsom veći dio mikrobioloških nalaza potvrđivao je prisutnost i gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija. U skupini neseptičnih bolesnika koji su imali mikrobiološki pozitivan nalaz (9 od 18) također su u većem broju bolesnika nađene obje vrste mikroorganizama. U mikrobiološkom nalazu najvećeg broja bolesnika sa sepsom, njih devet, nađene su tri različite mikrobiološke vrste. Slične rezultate prikazali su autori Alqarni i suradnici (211).

5.2 Perioperacijska dijagnostička točnost početnog SOFA sustava bodovanja, presepsina, prokalcitonina i CRP-a u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika

U bolesnika s intraabdominalnom infekcijom određivanje biljega SOFA, presepsina i prokalcitonina u razlikovanju bolesnika sa sepsom i bez sepse pokazalo se vrlo korisnim.

5.2.1 SOFA sustav bodovanja

Istraživanje Alqarni i suradnika pokazalo je da je vrijednost SOFA sustava bodovanja u kirurških bolesnika koji su imali pozitivan nalaz hemokulture statistički značajno veći u odnosu na one s negativnim nalazom hemokulture [8 (6–10) u odnosu na 7 (4–10); $p < 0,05$] (203). Studija Boillat-Blanco i suradnika (212) s velikim brojem ispitanika ($N=519$), od kojih je 6% bolesnika imalo abdominalnu infekciju (85% mikrobiološki ili klinički potvrđenu), istraživala je prognostičku točnost SOFA sustava bodovanja u 28-dnevnoj smrtnosti i pokazala da je smrtnost u bolesnika sa SOFA sustavom bodovanja ≥ 2 bila statistički značajno veća nego u bolesnika s manjim vrijednostima SOFA sustava bodovanja. Istraživanje Moore i suradnika (202) kojim je obuhvaćeno 67% hitnih bolesnika pokazalo je visoke vrijednosti SOFA sustava bodovanja (≥ 6 bodova) u populaciji septičnih bolesnika sa statistički značajnom razlikom u kategorijama septičnog stanja (sepsa, teška sepsa i septički šok). U istraživanju Paugam-Burtz i suradnika (213) perioperacijski SOFA sustav bodovanja u bolesnika s IAI bio je značajno veći nego u bolesnika bez IAI. Rezultati našeg istraživanja u skladu su s navedenim istraživanjima. Perioperacijski iSOFA sustav bodovanja značajno se razlikovao između septičnih i neseptičnih bolesnika. Prema odabranom kriteriju za dijagnostičku osjetljivost za sepsu od $\geq 95\%$ dobivena granična vrijednost za iSOFA iznosila je dva boda. ROC analiza pokazala je veliku površinu ispod krivulje (AUC) od 0,967 uz

specifičnost od 53%. Dobivena niska specifičnost rezultirat će povećanjem udjela bolesnika s lažnom pozitivnom sepsom. Istraživanje Yang i suradnika (197) nisu pokazala tako veliku AUC za SOFA sustav bodovanja u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika. Njihovo istraživanje obuhvatilo je heterogenu populaciju bolesnika. Za kirurške bolesnike ispitivanjem dijagnostičke točnosti SOFA sustava bodovanja dobivena je osjetljivost 51,7% i specifičnost 62,6% uz AUC 0,587. Istraživanje Tolonen i suradnika (214) koje je uključivalo specifičnu populaciju bolesnika s dijagnozom sekundarnog difuznog peritonitisa pokazalo je također dobru dijagnostičku točnost SOFA sustava bodovanja u prepoznavanju komplicirane intra-abdominalne sepse. Za graničnu vrijednost $SOFA \geq 2$ dobivena je AUC 0,825 uz osjetljivost 77% i specifičnost 83%. Istraživanje Lu (215) i suradnika na populaciji bolesnika s različitim ozljedama pokazalo je nisku dijagnostičku vrijednost SOFA sustava bodovanja za sepsu. Dobivena AUC bila je 0,698 s osjetljivošću od 59,2% i specifičnošću 75,5%.

5.2.2 Presepsin i prokalcitonin

Istraživanja koja su uključivala kirurške bolesnike i evaluirala korisnost presepsina i prokalcitonina u razlikovanju bolesnika s infekcijom i sepsom i bez infekcije i sepse pokazala su da se ovi biljezi upale/infekcije značajno razlikuju u ispitivanim skupinama.

Metaanaliza kineskih istraživača, Wu i suradnika (216), koja je uključivala devet studija s različitom populacijom bolesnika, a koja je primjenjiva na bolesnike smještene u jedinicama intenzivne skrbi, pokazala je da presepsin ima umjerenu dijagnostičku točnost u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika i da se ne može preporučiti kao konačni test za postavljanje dijagnoze sepse. Nedavna metaanaliza Yanga i suradnika (217) koja je obuhvatila deset istraživanja provedenih u Europi, istočnoj Aziji, sjeverozapadnoj Africi i Južnoj Americi pokazala je značajnu razliku u koncentraciji presepsina između bolesnika sa smrtnim ishodom i bez njega. Jedna manja studija Koakutsu i suradnika (218) koja je ispitala korisnosti presepsina u otkrivanju infekcija operacijske rane u bolesnika nakon kirurških zahvata na kralježnici pokazala je da bi vrijednost presepsina od 300 ng/L jedan tjedan nakon kirurškog zahvata mogla upozoravati na prisutnost infekcije operacijske rane.

Istraživanje Reitha i suradnika (219) pokazalo je da je poslijeoperacijsko praćenje koncentracije prokalcitonina korisno u identifikaciji bolesnika kod kojih dolazi do razvoja infektivnih komplikacija. Također je pokazano da su bolesnici sa smrtnim ishodom imali veće koncentracije prokalcitonina od onih koji su preživjeli. Mokart i suradnici (220) dobili su slične rezultate kojima su predložili graničnu vrijednost prokalcitonina od 1,1 $\mu\text{g/L}$ za prvi

poslijeoperacijski dani prikazali prokalcitonin kao dobar predviđatelj sepse u kirurških bolesnika. Spoto i suradnici (221) proveli su istraživanje dijagnostičke točnosti prokalcitonina kao biljega infekcije u abdominalnih kirurških bolesnika i pokazali da je rani poslijeoperacijski porast prokalcitonina i trajanje povećane koncentracije tijekom 72 sata poslijeoperacijski koristan pokazatelj rizika od razvoja poslijeoperacijskih infekcija i sepse. U svrhu otkrivanja komplikacija prouzročenih infekcijom preporučili su praćenje dinamike prokalcitonina tijekom prva tri dana poslijeoperacijski uz kliničku, mikrobiološku i slikovnu dijagnostiku. Pokazali su da granične vrijednosti $>1,0 \mu\text{g/L}$ prvoga i drugog poslijeoperacijskog dana i $>0,5 \mu\text{g/L}$ trećeg dana upućuju na moguće postojanje infektivnih komplikacija.

Naše istraživanje koje je uključivalo homogenu skupinu susljedno odabranih bolesnika koji su se razlikovali samo prema dijagnosticiranoj sepsi, što znači da je u skupini neseptičnih bolesnika bilo onih koji su imali također dokazanu infekciju, pokazalo je značajnu razliku u koncentracijama presepsina i prokalcitonina između septičnih i neseptičnih bolesnika. Analiza dijagnostičke točnosti pokazala je umjerenu veličinu površine ispod krivulje za oba biljega s nešto većom površinom za presepsin ($\text{AUC}=0,738$) u usporedbi s površinom za prokalcitonin ($\text{AUC}=0,694$), razlika nije bila statistički značajna. Prema odabranom kriteriju za dijagnostičku osjetljivost za sepsu od $\geq 95\%$ dobivena granična vrijednost za presepsin iznosila je 349 ng/L , a za prokalcitonin $0,17 \mu\text{g/L}$. Dijagnostička specifičnost prema zadanom kriteriju i dobivenim graničnim vrijednostima iznosila je za presepsin 33% , dok je za prokalcitonin dobivena izrazito mala specifičnost od 17% . Dobivene granične vrijednosti za oba biljega nalaze se u području gornje granice predloženih referentnih intervala ($184,222,223$). Ovako niske granične vrijednosti posljedica su specifičnog cilja ovog rada – ranog prepoznavanja septičnih bolesnika ili onih s rizikom za razvoj sepse uz zadanu veliku dijagnostičku osjetljivost biljega.

5.2.3 C-reaktivni protein

Istraživanje Meyera i suradnika (224) provedeno na skupini od 174 kirurških bolesnika smještenih u jedinicu intenzivnog liječenja pokazalo je da ne postoji značajna razlika u koncentraciji CRP-a između bolesnika s kirurškim i bez kirurških infekcija. Zaključeno je da je povećanje koncentracije CRP-a nedostatan parametar za otkrivanje komplikacija u kirurških bolesnika. Istraživanje Mokarta i suradnika (220) koje je provedeno na maloj skupini bolesnika pokazalo je da nije bilo razlike u koncentraciji CRP-a prvoga

poslijeoperacijskog dana između skupina septičnih i neseptičnih bolesnika. Dijagnostička točnost CRP-a u razlikovanju septičnih i neseptičnih bolesnika bila je mala s AUC 0,670. U istraživanju Kørnera i suradnika (225) u kontekstu abdominalnih kirurških bolesnika rezultati za prvi poslijeoperacijski dan pokazuju da postoji značajna razlika u koncentraciji CRP-a između bolesnika s intraabdominalnom infekcijom i infekcijom na drugim organskim sustavima te da je medijan koncentracije CRP-a u bolesnika s intraabdominalnom infekcijom veći nego u onih koji su imali drugu vrstu infekcija. Koncentracija CRP-a trećega, petog i sedmog poslijeoperacijskog dana nije se mijenjala u bolesnika s intraabdominalnom infekcijom za razliku od bolesnika bez infekcije i s drugim infekcijama gdje je postojao značajan pad koncentracije. Istraživanje Santonocita i suradnika (226) provedeno na različitoj populaciji bolesnika evaluiralo je poslijeoperacijsku dinamičku promjenu CRP-a. Koncentracija CRP-a bila je povećana nekoliko dana poslijeoperacijski u svih bolesnika, ali je kod bolesnika s infekcijom povećanje koncentracije bilo veće nego u onih bez infekcije. U bolesnika bez infekcije četvrtoga poslijeoperacijskog dana koncentracija CRP-a smanjila se za razliku od bolesnika s infekcijom u kojih se to povećanje zadržalo.

U našem istraživanju dobiveni su rezultati koji su u skladu s istraživanjima Meyera i Mokarta. CRP se pokazao kao biljeg sa slabom dijagnostičkom točnomi koji s površinom ispod krivulje od 0,606 gotovo ne može razlikovati septične od neseptičnih bolesnika. Pri zadanoj osjetljivosti od $\geq 95\%$ CRP ima vrlo nisku specifičnost, samo 14%. Rezultat našeg istraživanja očekivan je s obzirom na to da je CRP biljeg upale i ima vrlo malu specifičnost za infekciju (227). Nažalost, ovo istraživanje nije obuhvatilo praćenje dinamičke promjene koncentracije CRP-a kao ni ostala dva biljega u poslijeoperacijskom tijeku bolesti.

5.2.4 Izrazito visoke vrijednosti biljega upale/infekcije u skupini neseptičnih bolesnika

U skupini bolesnika kod kojih nije dijagnosticirana sepsa u jednog bolesnika izmjerene su visoke koncentracije svih triju biljega: presepsin je bio 11089 ng/L, prokalcitonin 35,64 $\mu\text{g/L}$ iCRP 169,0 mg/L, dok je iSOFA bila samo jedan bod. Rezultati mjerenja nisu izuzeti iz statističke analize jer nije nađena ni analitička greška ni greška u identifikaciji bolesnika. Nažalost, u ovog bolesnika nije tražena mikrobiološka pretraga čiji bi rezultati mogli isključiti ili potvrditi prisutnost infekcije. Navedeni bolesnik nije imao komplikacije kirurškog postupka, boravio je u jedinici intenzivnog liječenja jedan dan i nije imao smrtni ishod unutar 28 dana od kirurškog zahvata. Sumnja jedino ostaje na infekciju koja, nažalost, nije bila nikad dokazana.

5.3 Prediktivna vrijednost prvog i drugog ispitivanog modela za predviđanje sepse

Yang i suradnici proveli (197) su istraživanje u kojem su ispitali dijagnostičku vrijednost modela koji je uključivao CRP, prokalcitonin i SOFA sustav bodovanja u postavljanju dijagnoze sepse u bolesnika smještenih u jedinicu intenzivnog liječenja s posebno obrađenom skupinom kirurških bolesnika. Oni su analizom dijagnostičke točnosti pojedinačnih biljega dobili slijedeće površine ispod krivulje: za SOFA sustav bodovanja $AUC=0,587$, za prokalcitonin $AUC=0,698$ i a za CRP $AUC=0,697$. Yangov novi model je pokazao veću dijagnostičku točnost od pojedinačnog biljega s površinom ispod krivulje $0,745$ te dijagnostičku osjetljivost od 82% i specifičnost 63%.

U našem istraživanju u kojem je primijenjena multivarijatna logistička regresijska analiza upotrebom prisutnosti sepse ili ne kao ovisnom varijablom analizirana su dva modela. Prvi model je uključivao samo *i*SOFA sustav bodovanja. Drugi je predstavljao kombinacija triju biokemijskih biljega: presepsina, prokalcitonina i CRP-a koji su dodani vrijednostima *i*SOFA sustava bodovanja. Oba su se modela pokazala korisnima u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika, s time da se upotrebom drugog modela s pridruženim biljezima upale/infekcije pravilno dijagnosticira 2% bolesnika više nego upotrebom samo *i*SOFA sustava bodovanja. Upotrebom drugog modela s pridruženim biljezima, od kojih jedino CRP ima statistički značajan doprinos, vjerojatnost dijagnosticiranja sepse u hitnih kirurških abdominalnih bolesnika povećava se na 3,2 puta u odnosu na prvi model. U prvom modelu koji rabi samo početni SOFA sustava bodovanja ta vjerojatnost iznosi 2,3 puta. Dobivena dijagnostička točnost drugog modela s $AUC=0,985$ jest 2% veća od modela koji rabi samo *i*SOFA sustav bodovanja s $AUC=0,967$. Od svih pridruženih biljega najveći i znatan doprinos ima CRP, međutim on se kao samostalni, neovisni, biljeg za razlikovanje septičnih od neseptičnih bolesnika nije pokazao dijagnostički značajnim.

Iako je studija Enda i suradnika (194) pokazala da ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji presepsina između bolesnika s lokaliziranom i sustavnom infekcijom, što bi moglo isključiti ovaj biljeg kao pomoć u dijagnosticiranju sepse, ipak se korisnost određivanja dodanih biljega nalazi upravo u u ovoj karakteristici koja uz određivanje *i*SOFA sustava bodovanja može doprinijeti ranijem dijagnosticiranju sepse odnosno procjeni rizika za njezin razvoj te praćenjem porasta ili pada koncentracije ispitivanih biljega utvrditi napredovanje ili povlačenje bolesti.

5.4 Utjecaj bubrežne funkcije na koncentraciju istraživanih biljega upale/infekcije

Istraživanje Nagata i suradnika (228) u skupinama ispitanika podijeljenih prema rezultatima brzine glomerularne filtracije (GFR) pokazalo je da je koncentracija presepsina u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti u negativnoj korelaciji s GFR-om. Autori su pokazali da se vrijednosti presepsina u ispitanika na hemodijalizi koji nemaju dokazanu infekciju kreću od 783,0 do 2360,0 ng/L. Također su pokazali da se koncentracija presepsina nakon hemodijalize znatno smanjila. Nakamura i suradnici (229) pokazali su da nije nađena statistički značajna razlika u koncentraciji presepsina između septičnih i neseptičnih oliguričnih bolesnika (prema kriterijima RIFLE (230)), što bi moglo utjecati na njegovu upotrebu u bolesnika s oštećenjem bubrežne funkcije.

Ispitivanjem povezanosti koncentracije presepsina i procijenjene brzine glomerularne filtracije (eGFR) te koncentracije kreatinina u našem istraživanju pokazalo se također da postoji negativna umjerena korelacija s vrijednostima eGFR-a ($r=-0,593$) i pozitivna umjerena korelacija s vrijednostima kreatinina ($r=0,576$). U bolesnika s kirurškom sepsom posebna pažnja treba biti usmjerena na akutno bubrežno oštećenje (ABO). Nedavni pregledni članak Sartellia i suradnika (231) pokazao je da ABO dodatno komplicira kiruršku sepsu i predstavlja snažan rizik za bolničku smrtnost. Kako je poremećaj bubrežne funkcije jedno od organskih oštećenja povezanih sa sepsom, povećana koncentracija presepsina trebala bi se interpretirati u kontekstu bubrežne funkcije.

Rezultati ovog rada predstavljaju izvorni znanstveni doprinos s obzirom na to da su prvi put objedinjena četiri parametra: tri biokemijska biljega (presepsin, prokalcitonin i C-reaktivni protein) i prihvaćeni klinički bodovni sustav (SOFA) u evaluaciji septičnog stanja u specifičnoj dobro definiranoj populaciji hitnih abdominalnih kirurških bolesnika. Ovo je istraživanje susljedno uključilo hitne bolesnike koji su podvrgnuti hitnomu kirurškom zahvatu i koji su poslijeoperacijski smješteni u jedinicu intenzivnog liječenja. Stoga kontrolnu skupinu bolesnika nisu predstavljali zdravi ispitanici već hitni abdominalni kirurški bolesnici u kojih se poslijeoperacijski nije razvila sepsa. Iako je istraživanje uključilo relativno mali broj ispitanika, taj se broj pokazao dovoljan s obzirom na to da je bilo osmišljeno prema kriteriju minimalne heterogenosti. Istraživanje je pokazalo da ni jedan od tri biokemijska biljega ne može samostalno ispuniti zahtjeve kliničara u konačnome pravodobnom postavljanju diferencijalne dijagnoze sepse i/ili septičkog šoka. Iako od ispitivanih biljega samo CRP statistički značajno doprinosi početnoj vrijednosti SOFA sustava bodovanja, ipak glavni

doprinos presepsina, prokalcitonina i CRP-a posljedica je činjenice da im se koncentracije znatno i različitom dinamikom povećavaju u infektivnim stanjima, što je jedan od ključnih čimbenika u praćenju bolesnika sa sumnjom na mogući razvoj sepse i septičkog šoka. Iako prema posljednjem konsenzusu i rezultatima ovog istraživanja sustav bodovanja SOFA ostaje temelj postavljanja dijagnoze sepse, znanstveni doprinos ovog rada jest bolje razumijevanje patofizioloških promjena koje dovode do promjene koncentracija ispitivana tri biokemijska biljega u sepsi.

6. ZAKLJUČCI

1. iSOFA sustav bodovanja pokazao se najboljim prediktorom sepse u općih kirurški bolesnika smještenih u jedinicu intenzivnog liječenja nakon hitnoga kirurškog zahvata.
2. Presepsin i prokalcitonin kao neovisni biljezi upale/infekcije korisni su u diferencijalnoj dijagnostici sepse s umjerenom dijagnostičkom točnom.
3. Presepsin je pokazao veću dijagnostičku specifičnost za sepsu (33,3%) od prokalcitonina (16,7%) uz definiranu dijagnostičku osjetljivost od najmanje 95% .
4. CRP se kao neovisni biljeg zbog slabije dijagnostičke točnosti nije pokazao koristan u diferencijalnoj dijagnostici sepse u hitnih kirurških bolesnika.
5. Ispitivani model koji osim iSOFA sustava bodovanja uključuje biokemijske biljege upale/infekcije, presepsin, prokalcitonin i C-reaktivni protein, koristan je kao prediktivni model za sepsu. U tom modelu samo presepsin i CRP pružaju dodatnu vrijednost iSOFA sustavu bodovanja u predviđanju sepse.
6. Prokalcitonin, iako nema dodanu vrijednost u modelu s iSOFA sustavom bodovanja, dobar je neovisni biljeg čija se koncentracija u sepsi značajno povećava.

7. LITERATURA

1. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and Septic Shock: A History. *Crit Care Clin.* 2009;25(1):83–101. doi: org/10.1016/j.ccc.2008.12.003
2. Beutler B, Rietschel ET. Rietschel_Beutler_Innate Immune Sensing and Its Roots-the Story of Endotoxin_Nat Rev. 2003;(3):169-176. doi: 10.1038/nri1004
3. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc London Ser B, Biol Sci.* 1957;147(927):258–67.
4. Isaacs A, Lindenmann J, Valentine RC. Virus interference. II. Some properties of interferon. *Proc R Soc London Ser B, Biol Sci.* 1957;147(927):268–73.
5. Cohen S. Cytokine: more than a new word, a new concept proposed by Stanley Cohen thirty years ago. *Cytokine.* 2004;28(6):242–7. doi: 10.1016/j.cyto.2004.10.006
6. Gery I, Gershon RK, Waksman BH. Potentiation of cultured mouse thymocyte responses by factors released by peripheral leucocytes. *J Immunol.* 1971;107(6):1778–80.
7. Hunter AR. Old unhappy far off things. Some reflections on the significance of the early work on shock. *Ann R Coll Surg Engl.* 1967;40(5):289–305.
8. Blalock A. Experimental Shock. *Arch Surg.* 1930;20(6):959-996. doi: 10.1001/archsurg.1931.01160040074004
9. Clowes GH, Vucinic M, Weidner MG, Weidner MG. Circulatory and metabolic alterations associated with survival or death in peritonitis: clinical analysis of 25 cases. *Ann Surg.* 1966. 163(6):866–85. doi: 10.1097/00000658-196606000-00008
10. Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, Parker MM, Natanson C, Schuette W. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance. *J Clin Invest.* 1985;76(4):1539–53. doi: 10.1172/JCI112135
11. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority — A WHO Resolution. *N Engl J Med.* 2017;377(5):414–7. doi: 10.1056/NEJMp1707170
12. 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;193(3):259-272. doi: 10.1164/rccm.201504-0781OC
13. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med.* 2013;39(2):165–228. doi: 10.1007/s00134-012-2769-8
14. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003 ;29(4):530–8. doi: 10.1007/s00134-003-1662-x
15. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ. Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: A comparative meta-Analysis. *Crit Care Med.* 2014;42(3):625–31. doi: 10.1097/CCM.0000000000000026
16. Leligidowicz A, Dodek PM, Norena M, Wong H, Kumar A, Kumar A, et al. Association between Source of Infection and Hospital Mortality in Patients Who Have Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(10):1204–13. doi: 10.1164/rccm.201310-1875OC
17. 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;151(2):278–85. doi: 10.1016/j.chest.2016.07.010
18. Kübler A, Adamik B, Durek G, Mayzner-Zawadzka E, Gaszyński W, Karpel E, et al. Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003–2009. *Anestezjol Intens Ter*. 2015;47(1):7–13. doi: 10.5603/AIT.2015.0002
 19. Kaukonen K-M, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality Related to Severe Sepsis and Septic Shock Among Critically Ill Patients in Australia and New Zealand, 2000–2012. *JAMA*. 2014;311(13):1308–16. doi: 10.1001/jama.2014.2637
 20. Tillmann B, Wunsch H. *Epidemiology and Outcomes*. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):15–27. doi: 10.1016/j.ccc.2017.08.001
 21. Morgan MP, Szakmany T, Power SG, Olaniyi P, Hall JE, Rowan K, et al. Sepsis Patients with First and Second-Hit Infections Show Different Outcomes Depending on the Causative Organism. *Front Microbiol*. 2016;7:1–7. doi: 10.3389/fmicb.2016.00207
 22. Gupta S, Sakhuja A, Kumar G, McGrath E, Nanchal RS, Kashani KB. Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes. *Chest*. 2016;150(6):1251–9. doi: 10.1016/j.chest.2016.08.1460
 23. Blanco J, Muriel-Bombín A, Sagredo V, Taboada F, Gandía F, Tamayo L, et al. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care [Internet]*. 2008 Dec 17 [cited 2018 Oct 6];12(6):R158. Available from: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc7157>
 24. Gasparović V, Gornik I, Ivanović D. Sepsis syndrome in Croatian intensive care units: piloting a national comparative clinical database. *Croat Med J*. 2006;47(3):404–9.
 25. Zahar J-R, Timsit J-F, Garrouste-Orgeas M, Français A, Vesim A, Descorps-Declere A, et al. Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: Pathogen species and infection sites are not associated with mortality*. *Crit Care Med*. 2011 ;39(8):1886–95. doi: 10.1097/CCM.0b013e31821b827c
 26. Henriksen DP, Laursen CB, Jensen TG, Hallas J, Pedersen C, Lassen AT. Incidence Rate of Community-Acquired Sepsis Among Hospitalized Acute Medical Patients—A Population-Based Survey*. *Crit Care Med*. 2015;43(1):13–21. doi: 10.1097/CCM.0000000000000611
 27. Tanriover MD, Guven GS, Sen D, Unal S, Uzun O. Epidemiology and outcome of sepsis in a tertiary-care hospital in a developing country. *Epidemiol Infect*. 2006;134(2):315–22. doi: 10.1017/S0950268805004978
 28. Beale R, Reinhart K, Brunkhorst FM, Dobb G, Levy M, Martin G, et al. Promoting Global Research Excellence in Severe Sepsis (PROGRESS): Lessons from an International Sepsis Registry. *Infection*. 2009;37(3):222–32. doi: 10.1007/s15010-008-8203-z
 29. Cohen J, Cristofaro P, Carlet J, Opal S. New method of classifying infections in critically ill patients*. *Crit Care Med*. 2004;32(7):1510–26. doi: 10.1097/01.CCM.0000129973.13104
 30. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest*. 1992;101(6):1644–55. doi: 10.1378/chest.101.6.1644
 31. 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;315(8):801–10. doi: 10.1001/jama.2016.0287
 32. 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. *Intensive Care Med*. 1996;22(7):707–10. doi: 10.1007/BF01709751
 33. Hansen JD, Vojtech LN, Laing KJ. Sensing disease and danger: A survey of vertebrate

- PRRs and their origins. *Dev Comp Immunol.* 2011;35(9):886–97. doi: 10.1016/j.dci.2011.01.008
34. Nguyen HB, Jaehne AK, Jayaprakash N, Semler MW, Hegab S, Yataco AC, et al. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: Insights and comparisons to ProCESS, ProMISe, and ARISE. *Critical Care.* 2016;20(1):1-16. doi: 10.1186/s13054-016-1288-3
 35. Denk S, Perl M, Huber-Lang M. Damage- and pathogen-associated molecular patterns and alarmins: keys to sepsis?. *Eur Surg Res.* 2012;48(4):171–9. doi: 10.1159/000338194
 36. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease.* [Internet]. 5. izd. New York: Garland Science; 2001- [pristupljeno 23.1.2019.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10757/?term=janeway%20immunobiology>
 37. Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol.* 2011;12(11):1035–44. doi: 10.1038/ni.2109
 38. Degn SE, Thiel S. Humoral Pattern Recognition and the Complement System. *Scand J Immunol.* 2013;78(2):181–93. doi: 10.1111/sji.12070
 39. Sokol CL, Luster AD. The chemokine system in innate immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7(5):1-11. doi: 10.1101/cshperspect.a016303
 40. Matsumoto H, Ogura H, Shimizu K, Ikeda M, Hirose T, Matsuura H, et al. The clinical importance of a cytokine network in the acute phase of sepsis. *Sci Rep.* 2018;8(1):1-11 doi: 10.1038/s41598-018-32275-8
 41. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang M-J, et al. Role of Chitin and Chitinase/Chitinase-Like Proteins in Inflammation, Tissue Remodeling, and Injury. *Annu Rev Physiol.* 2011;73(1):479–501. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142250
 42. Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(8):551–65. doi: 10.1038/nri3479
 43. Cai X, Chiu Y-H, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING Pathway of Cytosolic DNA Sensing and Signaling. *Mol Cell.* 2014;54(2):289–96. doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.040
 44. van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(1):32–43. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70265-7
 45. Linda Bruslind, Microbiology, Bacteria: Cell Wall [slika s interneta]. [pristupljeno 31.3. 2019]. Dostupno na: <http://library.open.oregonstate.edu/microbiology/chapter/bacteria-cell-walls/>
 46. Linda Bruslind, Microbiology, Bacteria: Cell Wall [slika s interneta]. [pristupljeno 28.2. 2019]. Dostupno na: <http://library.open.oregonstate.edu/microbiology/chapter/bacteria-cell-walls/>
 47. Chow DA. Natural Immune Activation: Stimulators/Receptors. *NeuroImmune Biol.* 2005;5:123–50. doi: 10.1016/S1567-7443(05)80013-4
 48. Deutschman CS, Tracey KJ. Sepsis: Current dogma and new perspectives. Vol. 40, *Immunity.* 2014.14(4):463-475 doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.001
 49. Rubartelli A, Lotze MT. Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends Immunol.* 2007;28(10):429–36. doi: 10.1016/J.IT.2007.08.004
 50. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002;420(6917):885-891. doi: 10.1038/nature01326
 51. Cinel I, Opal SM. Molecular biology of inflammation and sepsis: A primer*. *Crit Care*

- Med. 2009;37(1):291–304. doi: 10.1097/CCM.0b013e31819267fb
52. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010;11(5):373–84. doi: 10.1038/ni.1863
 53. Regan T, Nally K, Carmody R, Houston A, Shanahan F, MacSharry J, et al. Identification of TLR10 as a Key Mediator of the Inflammatory Response to *Listeria monocytogenes* in Intestinal Epithelial Cells and Macrophages. *J Immunol.* 2013;191(12):6084–92. doi: 10.4049/jimmunol.1203245
 54. Lee SMY, Kok K-H, Jaume M, Cheung TKW, Yip T-F, Lai JCC, et al. Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci.* 2014;111(10):3793–8. doi: 10.1073/pnas.1324266111
 55. Blasius AL, Beutler B. Intracellular Toll-like Receptors. *Immunity.* 2010;32(3):305–15. doi: 10.1016/j.immuni.2010.03.012
 56. Zhang S-Y, Jouanguy E, Ugolini S, Smahi A, Elain G, Romero P, et al. TLR3 Deficiency in Patients with Herpes Simplex Encephalitis. *Science.* 2007;317(5844):1522–7. doi: 10.1126/science.1139522
 57. Bernard JJ, Cowing-Zitron C, Nakatsuji T, Muehleisen B, Muto J, Borkowski AW, et al. Ultraviolet radiation damages self noncoding RNA and is detected by TLR3. *Nat Med.* 2012;18(8):1286–90. doi: 10.1038/nm.2861
 58. Takemura N, Kawasaki T, Kunisawa J, Sato S, Lamichhane A, Kobiyama K, et al. Blockade of TLR3 protects mice from lethal radiation-induced gastrointestinal syndrome. *Nat Commun.* 2014;5(1):3492. doi: 10.1038/ncomms4492
 59. Mancuso G, Gambuzza M, Midiri A, Biondo C, Papasergi S, Akira S, et al. Bacterial recognition by TLR7 in the lysosomes of conventional dendritic cells. *Nat Immunol.* 2009;10(6):587–94. doi: 10.1038/ni.1733
 60. Guiducci C, Gong M, Cepika A-M, Xu Z, Tripodo C, Bennett L, et al. RNA recognition by human TLR8 can lead to autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2013 ;210(13):2903–19. doi: 10.1084/jem.20131044
 61. Coban C, Igari Y, Yagi M, Reimer T, Koyama S, Aoshi T, et al. Immunogenicity of Whole-Parasite Vaccines against *Plasmodium falciparum* Involves Malarial Hemozoin and Host TLR9. *Cell Host Microbe.* 2010;7(1):50–61. doi: 10.1016/j.chom.2009.12.003
 62. Mathur R, Oh H, Zhang D, Park S-G, Seo J, Koblansky A, et al. A Mouse Model of *Salmonella* Typhi Infection. *Cell.* 2012;151(3):590–602. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.042
 63. Yarovinsky F. TLR11 Activation of Dendritic Cells by a Protozoan Profilin-Like Protein. *Science.* 2005;308(5728):1626–9. doi: 10.1126/science.1109893
 64. Botos I, Segal DM, Davies DR. The Structural Biology of Toll-like Receptors. *Structure.* 2011;19(4):447–59. doi: 10.1016/j.str.2011.02.004
 65. Oshiumi H, Matsumoto M, Funami K, Akazawa T, Seya T. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3–mediated interferon- β induction. *Nat Immunol.* 2003;4(2):161–7. doi: 10.1038/ni886
 66. Yamamoto M, Sato S, Mori K, Hoshino K, Takeuchi O, Takeda K, et al. Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. *J Immunol.* 2002;169(12):6668–72. doi: 10.4049/JIMMUNOL.169.12.6668
 67. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol.* 2014;5:461. doi: 10.3389/fimmu.2014.00461
 68. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006;124(4):783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015
 69. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for

- complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*. 1990;249(4975):1431–3. doi: 10.1126/SCIENCE.1698311
70. Pugin J, Heumann D, Tomasz A, Kravchenko V V., Akamatsu Y, Nishijima M, et al. CD14 Is a pattern recognition receptor. *Immunity*. 1994;1(6):509–16. doi: 10.1016/1074-7613(94)90093-0
 71. Devitt A, Moffatt OD, Raykundalia C, Capra JD, Simmons DL, Gregory CD. Human CD14 mediates recognition and phagocytosis of apoptotic cells. *Nature*. 1998;392(6675):505–9. doi: 10.1038/33169
 72. Zanoni I, Ostuni R, Marek LR, Barresi S, Barbalat R, Barton GM, et al. CD14 Controls the LPS-Induced Endocytosis of Toll-like Receptor 4. *Cell*. 2011;147(4):868–80. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.051
 73. Moore KJ, Andersson LP, Ingalls RR, Monks BG, Li R, Arnaout MA, et al. Divergent response to LPS and bacteria in CD14-deficient murine macrophages. *J Immunol*. 2000;165(8):4272–80.
 74. Baumann CL, Aspalter IM, Sharif O, Pichlmair A, Blüml S, Grebien F, et al. CD14 is a coreceptor of Toll-like receptors 7 and 9. *J Exp Med*. 2010;207(12):2689–701. doi: 10.1084/jem.20101111
 75. Loppnow H, Stelter F, Schönbeck U, Schlüter C, Ernst M, Schütt C, et al. Endotoxin activates human vascular smooth muscle cells despite lack of expression of CD14 mRNA or endogenous membrane CD14. *Infect Immun*. 1995;63(3):1020–6.
 76. Pugin J, Schürer-Maly CC, Leturcq D, Moriarty A, Ulevitch RJ, Tobias PS. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(7):2744–8. doi: 10.1073/PNAS.90.7.2744
 77. Frey EA, Miller DS, Jahr TG, Sundan A, Bazil V, Espevik T, et al. Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. *J Exp Med*. 1992;176(6):1665–71. doi: 10.1084/JEM.176.6.1665
 78. Anwar MA, Basith S, Choi S. Negative regulatory approaches to the attenuation of Toll-like receptor signaling. *Exp Mol Med*. 2013;45(2):1–14. doi: 10.1038/emm.2013.28
 79. LeBouder E, Rey-Nores JE, Rushmere NK, Grigorov M, Lawn SD, Affolter M, et al. Soluble forms of Toll-like receptor (TLR)2 capable of modulating TLR2 signaling are present in human plasma and breast milk. *J Immunol*. 2003;171(12):6680–9.
 80. Iwami KI, Matsuguchi T, Masuda A, Kikuchi T, Musikacharoen T, Yoshikai Y. Cutting edge: naturally occurring soluble form of mouse Toll-like receptor 4 inhibits lipopolysaccharide signaling. *J Immunol*. 2000;165(12):6682–6. doi: 10.4049/JIMMUNOL.165.12.6682
 81. Kadota C, Ishihara S, Aziz MM, Rumi MA, Oshima N, Mishima Y, et al. Down-regulation of single immunoglobulin interleukin-1R-related molecule (SIGIRR)/TIR8 expression in intestinal epithelial cells during inflammation. *Clin Exp Immunol*. 2010;162(2):348–61. doi: 10.1111/J.1365-2249.2010.04254.X
 82. Basith S, Manavalan B, Govindaraj RG, Choi S. In Silico Approach to Inhibition of Signaling Pathways of Toll-Like Receptors 2 and 4 by ST2L. Uversky VN, editor. *PLoS One*[Internet]. 2011 [pristupljeno30.10.2018];6(8):e23989. Dostupno na: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0023989>
 83. Divanovic S, Trompette A, Atabani SF, Madan R, Golenbock DT, Visintin A, et al. Negative regulation of Toll-like receptor 4 signaling by the Toll-like receptor homolog RP105. *Nat Immunol*. 2005;6(6):571–8. doi: 10.1038/ni1198
 84. Palsson-Mcdermott EM, Doyle SL, Mcgettrick AF, Hardy M, Husebye H, Banahan K, et al. TAG, a splice variant of the adaptor TRAM, negatively regulates the adaptor

- MyD88-independent TLR4 pathway. *Nat. Immunol.* 2009;10(6):579-587. doi: 10.1038/ni.1727
85. Wang T, Chuang T-H, Ronni T, Gu S, Du Y-C, Cai H, et al. Flightless I Homolog Negatively Modulates the TLR Pathway. *J Immunol.* 2006;176(3):1355–62. doi: 10.4049/jimmunol.176.3.1355
 86. Siednienko J, Halle A, Nagpal K, Golenbock DT, Miggin SM. TLR3-mediated IFN- β gene induction is negatively regulated by the TLR adaptor MyD88 adaptor-like. *Eur. J. Immunol.* 2010. 40: 3150–3160. doi: 10.1002/eji.201040547
 87. Kawagoe T, Takeuchi O, Takabatake Y, Kato H, Isaka Y, Tsujimura T, et al. TANK is a negative regulator of Toll-like receptor signaling and is critical for the prevention of autoimmune nephritis. *Nat Immunol.* 2009;10(9):965–72. doi: 10.1038/ni.1771
 88. Yuk J-M, Shin D-M, Lee H-M, Kim J-J, Kim S-W, Jin HS, et al. The orphan nuclear receptor SHP acts as a negative regulator in inflammatory signaling triggered by Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2011;12(8):742–51. doi: 10.1038/ni.2064
 89. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(6):454–65. doi: 10.1038/nri2093
 90. Kayagaki N, Phung Q, Chan S, Chaudhari R, Quan C, O'Rourke KM, et al. DUBA: a deubiquitinase that regulates type I interferon production. *Science.* 2007 ;318(5856):1628–32. doi: 10.1126/science.1145918
 91. Peng Q, O'Loughlin JL, Humphrey MB. DOK3 Negatively Regulates LPS Responses and Endotoxin Tolerance. Bereswill S, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jun 27 [pristupljeno 31.10.2018;7(6):e39967. Dostupno na: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0039967>
 92. Zhou F, Zhang X, van Dam H, ten Dijke P, Huang H, Zhang L. Ubiquitin-specific Protease 4 Mitigates Toll-like/Interleukin-1 Receptor Signaling and Regulates Innate Immune Activation. *J Biol Chem.* 2012;287(14):11002–10. doi: 10.1074/jbc.M111.328187
 93. He X, Li Y, Li C, Liu L-J, Zhang X-D, Liu Y, et al. USP2a negatively regulates IL-1 β - and virus-induced NF- κ B activation by deubiquitinating TRAF6. *J Mol Cell Biol.* 2013;5(1):39–47. doi: 10.1093/jmcb/mjs024
 94. Ananieva O, Darragh J, Johansen C, Carr JM, McIlrath J, Park JM, et al. The kinases MSK1 and MSK2 act as negative regulators of Toll-like receptor signaling. *Nat Immunol.* 2008;9(9):1028–36. doi: 10.1038/ni.1644
 95. Bhattacharyya S, Brown DE, Brewer JA, Vogt SK, Muglia LJ. Macrophage glucocorticoid receptors regulate Toll-like receptor 4-mediated inflammatory responses by selective inhibition of p38 MAP kinase. *Blood.* 2007;109:4313–9. doi: 10.1182/blood-2006-10
 96. Kawana H, Karaki H, Higashi M, Miyazaki M, Hilberg F, Kitagawa M, et al. CD44 Suppresses TLR-Mediated Inflammation. *J Immunol.* 2008;180(6):4235–45. doi: 10.4049/jimmunol.180.6.4235
 97. Han C, Jin J, Xu S, Liu H, Li N, Cao X. Integrin CD11b negatively regulates TLR-triggered inflammatory responses by activating Syk and promoting degradation of MyD88 and TRIF via Cbl-b. *Nat Immunol.* 2010;11(8):734–42. doi: 10.1038/ni.1908
 98. Okazaki N, Hazeki K, Izumi T, Nigorikawa K, Hazeki O. C5a controls TLR-induced IL-10 and IL-12 production independent of phosphoinositide 3-kinase. *J Biochem.* 2011;149(3):265–74. doi: 10.1093/jb/mvq136
 99. Shi M, Deng W, Bi E, Mao K, Ji Y, Lin G, et al. TRIM30 α negatively regulates TLR-mediated NF- κ B activation by targeting TAB2 and TAB3 for degradation. *Nat Immunol.* 2008;9(4):369–77. doi: 10.1038/ni1577
 100. Xue Q, Zhou Z, Lei X, Liu X, Wang J, Hung T. TRIM38 Negatively Regulates TLR3-

- Mediated IFN β Signaling by Targeting TRIF for Degradation. PLoS One [Internet] Oct 2012 [pristupljeno 31.10.2018]; Dostupno na: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0046825>
101. Inomata M, Niida S, Shibata K, Into T. Regulation of Toll-like receptor signaling by NDP52-mediated selective autophagy is normally inactivated by A20. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(6):963–79. doi: 10.1007/s00018-011-0819-y
 102. O'Neill LA, Sheedy FJ, McCoy CE. MicroRNAs: the fine-tuners of Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(3):163–75. doi: 10.1038/nri2957
 103. Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol.* 2017;39(5):517–28. doi: 10.1007/s00281-017-0639-8
 104. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci Signal.* 2010;3(105):1-6. doi: 10.1126/scisignal.3105cm1
 105. Rose-John S. Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [internet]. 2018 Feb 1 [pristupljeno 02.11.2018];10(2):a028415. Dostupno na: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/10/2/a028415.full.pdf+html?sid=80973065-7973-4904-b22b-8cb0ba561ca9>
 106. Patel RT, Deen KI, Youngs D, Warwick J, Keighley MRB. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. *Br J Surg.* 1994;81(9):1306–8. doi: 10.1002/bjs.1800810914
 107. Riedemann NC, Guo R-F, Hollmann TJ, Gao H, Neff TA, Reuben JS, et al. Regulatory role of C5a in LPS-induced IL-6 production by neutrophils during sepsis. *FASEB J.* 2004;18(2):370–2. doi: 10.1096/fj.03-0708fje
 108. Krüttgen A, Rose-John S. Interleukin-6 in Sepsis and Capillary Leakage Syndrome. *J Interf Cytokine Res.* 2012;32(2):60–5. doi: 10.1089/jir.2011.0062
 109. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(2):133–46. doi: 10.1038/nri1001
 110. Weighardt H, Heidecke C-D, Westerholt A, Emmanuilidis K, Maier S, Veit M, et al. Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis. *Ann Surg.* 2002;235(4):560–7.
 111. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of Interferon- γ During Innate and Adaptive Immune Responses. *Adv Immunol* 2007;46:41–101. doi: 10.1016/S0065-2776(07)96002-2
 112. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular Responses To Interferon- Γ . *Annu Rev Immunol.* 1997;15(1):749–95. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.749
 113. Lieberman LA, Hunter CA. The Role Of Cytokines And Their Signaling Pathways In The Regulation Of Immunity To *Toxoplasma gondii*. *Int Rev Immunol.* 2002;21(4–5):373–403. doi: 10.1080/08830180213281
 114. Romero CR, Herzig DS, Etogo A, Nunez J, Mahmoudizad R, Fang G, et al. The role of interferon- γ in the pathogenesis of acute intra-abdominal sepsis. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2010 Oct 1 [cited 2018 Nov 3];88(4):725–35. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1189/jlb.0509307>
 115. Ono S, Ueno C, Aosasa S, Tsujimoto H, Seki S, Mochizuki H. Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis. *Am J Surg.* 2001;182(5):491–7. doi: 10.1016/S0002-9610(01)00754-1
 116. Leentjens J, Kox M, Koch RM, Preijers F, Joosten LAB, van der Hoeven JG, et al. Reversal of Immunoparalysis in Humans *In Vivo*. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186(9):838–45. doi: 10.1164/rccm.201204-0645OC
 117. Chousterman BG, Boissonnas A, Poupel L, Baudesson de Chanville C, Adam J,

- Tabibzadeh N, et al. Ly6Chigh Monocytes Protect against Kidney Damage during Sepsis via a CX3CR1-Dependent Adhesion Mechanism. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(3):792–803. doi: 10.1681/ASN.2015010009
118. Cai S, Batra S, Lira SA, Kolls JK, Jeyaseelan S. CXCL1 regulates pulmonary host defense to Klebsiella Infection via CXCL2, CXCL5, NF-kappaB, and MAPKs. *J Immunol*. 2010;185(10):6214–25. doi: 10.4049/jimmunol.0903843
 119. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(7):533–44. doi: 10.1038/nri2356
 120. Rauch PJ, Chudnovskiy A, Robbins CS, Weber GF, Etzrodt M, Hilgendorf I, et al. Innate response activator B cells protect against microbial sepsis. *Science*. 2012;335(6068):597–601. doi: 10.1126/science.1215173
 121. Steeland S, Libert C, Vandembroucke RE. A New Venue of TNF Targeting. *Int J Mol Sci*. 2018;19(5). doi: 10.3390/ijms19051442
 122. Mootoo A, Stylianou E, Arias M, Reljic R. TNF- α in Tuberculosis: A Cytokine with a Split Personality. *Inflamm Allergy-Drug Targets*. 2009;8(1):53–62. doi: 10.2174/187152809787582543
 123. Kollias G, Douni E, Kassiotis G, Kontoyiannis D. The function of tumour necrosis factor and receptors in models of multi-organ inflammation, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Ann Rheum Dis*. 1999;58(Suppl 1):S32-9. doi: 10.1136/ARD.58.2008.I32
 124. Fischer R, Kontermann R, Maier O, Fischer R, Kontermann RE, Maier O. Targeting sTNF/TNFR1 Signaling as a New Therapeutic Strategy. *Antibodies*. 2015;4(1):48–70. doi: 10.3390/antib4010048
 125. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014;25(4):453–72. doi: 10.1016/j.cytogfr.2014.07.016
 126. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, Michie HR, Stanford GG, van der Meer JWM, et al. Circulating Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor in Septic Shock and Experimental Endotoxin Fever. *J Infect Dis*. 1990;161(1):79–84. doi: 10.1093/infdis/161.1.79
 127. Rigato O, Ujvari S, Castelo A, Salomão R. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and sepsis: evidence for a role in host defense. *Infection*. 1996;24(4):314–8.
 128. Kothari N, Bogra J, Abbas H, Kohli M, Malik A, Kothari D, et al. Tumor Necrosis Factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock. *Cytokine*. 2013;61(2):676–81. doi: 10.1016/j.cyto.2012.11.016
 129. Schreuder H, Tardif C, Trump-Kallmeyer S, Soffientini A, Sarubbi E, Akeson A, et al. A new cytokine-receptor binding mode revealed by the crystal structure of the IL-1 receptor with an antagonist. *Nature*. 1997;386(6621):194–200. doi: 10.1038/386194a0
 130. Dinarello CA. Induction of interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist. *Semin Oncol*. 1997;24(Suppl 9):S9-81-S9-93.
 131. Dinarello CA. Interleukin-1, Interleukin-1 Receptors and Interleukin-1 Receptor Antagonist. *Int Rev Immunol*. 1998;16(5–6):457–99. doi: 10.3109/08830189809043005
 132. Luzina IG, Keegan AD, Heller NM, Rook GAW, Shea-Donohue T, Atamas SP. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of “alternatives.” *J Leukoc Biol*. 2012;92(4):753–64. doi: 10.1189/jlb.0412214
 133. Paul WE. Blood Interleukin-4: A Prototypic Immunoregulatory Lymphokine. 1991;77(9):1859-70
 134. Clarke CJP, Hales A, Hunt A, Foxwell BMJ. IL-10-mediated suppression of TNF- α production is independent of its ability to inhibit NF- κ B activity. 1998;28:1719-26.

- Eur J Immunol.
135. Gerard C, Bruyns C, Marchant A, Abramowicz D, Vandenabeele P, Delvaux A, et al. Interleukin 10 Reduces the Release of Tumor Necrosis Factor and Prevents Lethality in Experimental Endotoxemia. *J Exp Med*. 1993;177:547-50.
 136. Marchant A, Bruyns C, Vandenabeele P, Ducarme M, Gérard C, Delvaux A, et al. Interleukin-10 controls interferon- γ and tumor necrosis factor production during experimental endotoxemia. *Eur J Immunol*. 1994;24(5):1167–71. doi: 10.1002/eji.1830240524
 137. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(12):862-74. doi: 10.1038/nri3552
 138. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of Transforming Growth Factor β in Human Disease. Epstein FH, editor. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1350–8. doi: 10.1056/NEJM200005043421807
 139. Pellacani A, Wiesel P, Razavi S, Vasilj V, Feinberg MW, Chin MT, et al. Down-regulation of high mobility group-I(Y) protein contributes to the inhibition of nitric-oxide synthase 2 by transforming growth factor-beta1. *J Biol Chem*. 2001;276(2):1653–9. doi: 10.1074/jbc.M008170200
 140. Turner M, Chantry D, Katsikis P, Berge A, Brennan FM, Feldmann M. Induction of the interleukin 1 receptor antagonist protein by transforming growth factor- β . *Eur J Immunol*. 1991;21(7):1635–9. doi: 10.1002/eji.1830210708
 141. Gilbert KM, Thoman M, Bauche K, Pham T, Weigle WO. Transforming growth factor- β 1 induces antigen-specific unresponsiveness in naive t cells. *Immunol Invest*. 1997;26(4):459–72. doi: 10.3109/08820139709022702
 142. Zanotti S, Kumar A, Kumar A. Cytokine modulation in sepsis and septic shock. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002;11(8):1061–75. doi: 10.1517/13543784.11.8.1061
 143. Aziz M, Jacob A, Yang W-L, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J Leukoc Biol*. 2013;93(3).
 144. Tyml K, Wang X, Lidington D, Ouellette Y. Lipopolysaccharide reduces intercellular coupling in vitro and arteriolar conducted response in vivo. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2001;281(3):H1397–406. doi: 10.1152/ajpheart.2001.281.3.H1397
 145. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The Structure and Function of the Endothelial Glycocalyx Layer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007;9(1):121–67. doi: 10.1146/annurev.bioeng.9.060906.151959
 146. De Backer D, Donadello K, Taccone FS, Ospina-Tascon G, Salgado D, Vincent J-L. Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy. *Ann Intensive Care*. 2011;1(1):27. doi: 10.1186/2110-5820-1-27
 147. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2006;290(6):H2247–56. doi/10.1152/ajpheart.00796.2005
 148. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. Vol. 34, *Critical Care Clinics*. 2018.
 149. Ignarro LJ. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension*. 1990;16(5):477–83. doi: 10.1161/01.HYP.16.5.477
 150. Murad F, Waldman S, Molina C, Bennett B, Leitman D. Regulation and role of guanylate cyclase-cyclic GMP in vascular relaxation. *Prog Clin Biol Res*. 1987;249:65–76.
 151. Goldman D, Bateman RM, Ellis CG. Effect of decreased O₂ supply on skeletal muscle oxygenation and O₂ consumption during sepsis: role of heterogeneous capillary spacing and blood flow. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2006;290(6):H2277–85. doi:

- 10.1152/ajpheart.00547.2005
152. Wang Z, Holthoff JH, Seely KA, Pathak E, Spencer HJ, Gokden N, et al. Development of Oxidative Stress in the Peritubular Capillary Microenvironment Mediates Sepsis-Induced Renal Microcirculatory Failure and Acute Kidney Injury. *Am J Pathol.* 2012;180(2):505–16. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.10.011
 153. Brealey D, Karyampudi S, Jacques TS, Novelli M, Stidwill R, Taylor V, et al. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2001;286(3):R491–7. doi: 10.1152/ajpregu.00432.2003
 154. Buck LT, Hochachka PW. Anoxic suppression of Na(+)-K(+)-ATPase and constant membrane potential in hepatocytes: support for channel arrest. *Am J Physiol.* 1993;265:R1020-5. doi: 10.1152/ajpregu.1993.265.5.R1020
 155. Piel DA, Gruber PJ, Weinheimer CJ, Courtois MR, Robertson CM, Coopersmith CM, et al. Mitochondrial resuscitation with exogenous cytochrome c in the septic heart. *Crit Care Med.* 2007;35(9):2120–7. doi: 10.1097/01.ccm.0000278914.85340.fe
 156. Schmidt C, Höcherl K, Schweda F, Bucher M. Proinflammatory cytokines cause down-regulation of renal chloride entry pathways during sepsis. *Crit Care Med.* 2007;35(9):2110–9. doi: 10.1097/01.ccm.0000281447.22966.8b
 157. Kim PK, Chen J, Andrejko KM, Deutschman CS. Intraabdominal sepsis down-regulates transcription of sodium taurocholate cotransporter and multidrug resistance-associated protein in rats. *Shock.* 2000;14(2):176–81.
 158. Gómez H, Kellum JA, Ronco C. Metabolic reprogramming and tolerance during sepsis-induced AKI. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(3):143–51. doi: 10.1038/nrneph.2016.186
 159. Gómez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care.* 2016;22(6):546–53; doi:10.1097/MCC.0000000000000356
 160. Matarese G, Marone G, Pucino V, Procaccini C, De Rosa V. Neuro-Endocrine Networks Controlling Immune System in Health and Disease. *Front Immunol.* 2014;5(April):1–10. doi: 10.3389/fimmu.2014.00143
 161. Lopez N, Kobayashi L, Coimbra R. A Comprehensive review of abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2011;6(7):1-10. doi: 10.1186/1749-7922-6-7
 162. Pieracci FM, Barie PS. Management of severe sepsis of abdominal origin. *Scand J Surg.* 2007;96(3):184–96. doi: 10.1177/145749690709600302
 163. Xiao Z, Wilson C, Robertson HL, Roberts DJ, Ball CG, Jenne CN, et al. Inflammatory mediators in intra-abdominal sepsis or injury - a scoping review. *Crit Care.* 2015;19:373. doi: 10.1186/s13054-015-1093-4
 164. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol.* 1983;34:141–212.
 165. Tillett WS, Francis T. Serological Reactions In Pneumonia With A Non-Protein Somatic Fraction Of Pneumococcus. *J Exp Med.* 1930;52(4):561–71. doi: 10.1084/jem.52.4.561
 166. Gabay C, Kushner I. Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. Epstein FH, editor. *N Engl J Med.* 1999;340(6):448–54. doi: 10.1056/NEJM199902113400607
 167. Wu Y, Potempa LA, El Kebir D, Filep JG. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol Chem.* 2015;396(11). doi: 10.1515/hsz-2015-0149
 168. Gupta R, Singh R, Soni M. C-reactive protein (CRP) as an indicator of sepsis in orthopaedic trauma. *Indian J Med Sci.* 2002;56(10):501–7.
 169. Peltola H, Luhtala K, Valmari P. *J Pediatr.* 1984;104(6):869-72. C-reactive protein as a

- detector of organic complications during recovery from childhood purulent meningitis.; doi: 10.1016/S0022-3476(84)80483-7
170. Melbye H, Hvidsten D, Holm A, Nordbø S, Pract JB-BJG, 2004 undefined. The course of C-reactive protein response in untreated upper respiratory tract infection. *Br J Gen Pract.* 2004;54(506): 653-58.
 171. Mehra A, Langkamer VG, Day A, Harris S, Spencer RF. C reactive protein and skin temperature post total knee replacement. *Knee.* 2005;12(4):297–300. doi: 10.1016/j.knee.2004.09.005
 172. Sasaki K, Fujita I, Hamasaki Y, Miyazaki S. Differentiating between bacterial and viral infection by measuring both C-reactive protein and 2'-5'-oligoadenylate synthetase as inflammatory markers. *J Infect Chemother.* 2002;8(1):76–80. doi: 10.1007/s101560200010
 173. Marková M, Brodská H, Malíčková K, Válková V, Cetkovský P, Kolář M, et al. Substantially elevated C-reactive protein (CRP), together with low levels of procalcitonin (PCT), contributes to diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients. *Support Care Cancer.* 2013;21(10):2733–42. doi: 10.1007/s00520-013-1844-1
 174. Barauskas G, Svagzdys S, Maleckas A. C-reactive protein in early prediction of pancreatic necrosis. *Medicina (Kaunas).* 2004;40(2):135–40.
 175. Neumaier M, Metak G, Scherer MA. C-reactive protein as a parameter of surgical trauma: CRP response after different types of surgery in 349 hip fractures. *Acta Orthop.* 2006;77(5):788–90. doi: 10.1080/17453670610013006
 176. Allin KH, Nordestgaard BG. Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2011;48(4):155–70. doi: 10.3109/10408363.2011.599831
 177. Becker KL, Nylén ES, White JC, Müller B, Snider RH. Clinical review 167: Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(4):1512–25. doi: 10.1210/jc.2002-021444
 178. Linscheid P, Seboek D, Nylén ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology.* 2003;144(12):5578–84. doi: 10.1210/en.2003-0854
 179. Morgenthaler NG, Struck J, Chancerelle Y, Weglöhner W, Agay D, Bohuon C, et al. Production of procalcitonin (PCT) in non-thyroidal tissue after LPS injection. *Horm Metab Res.* 2003;35(5):290–5. doi: 10.1055/s-2003-41304
 180. Watkins RR, Lemonovich TL. Serum procalcitonin in the diagnosis and management of intra-abdominal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10(2):197–205. doi: 10.1586/eri.11.164
 181. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, Cucherat M, Perret G-Y. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2006;34(7):1996–2003. doi: 10.1097/01.CCM.0000226413.54364.36
 182. Bouadma L, Luyt C-E, Tubach F, Cracco C, Alvarez A, Schwebel C, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2010 6;375(9713):463–74. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61879-1
 183. Masson S, Caironi P, Fanizza C, Thomae R, Bernasconi R, Noto A, et al. Circulating presepsin (soluble CD14 subtype) as a marker of host response in patients with severe sepsis or septic shock: data from the multicenter, randomized ALBIOS trial. *Intensive Care Med.* 2015;41(1):12–20. doi: 10.1007/s00134-014-3514-2

184. Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y, Endo S. 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. *J Infect Chemother.* 2011;17(6):764–9. doi: 10.1007/s10156-011-0254-x
185. Carpio R, Zapata J, Spanuth E, Hess G. Utility of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta.* 2015;450:169–75. doi: 10.1016/j.cca.2015.08.013
186. Labeta MO, Durieux JJ, Fernandez N, Herrmann R, Ferrara P. Release from a human monocyte-like cell line of two different soluble forms of the lipopolysaccharide receptor, CD14. *Eur J Immunol.* 1993;23(9):2144–51. doi: 10.1002/eji.1830230915
187. Chenevier-Gobeaux C, Borderie D, Weiss N, Mallet-Coste T, Claessens Y-E. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *Clin Chim Acta.* 2015 t 23;450:97–103. doi: 10.1016/j.cca.2015.06.026
188. Bufler P, Stiegler G, Schuchmann M, Hess S, Krüger C, Stelter F, et al. Soluble lipopolysaccharide receptor (CD14) is released via two different mechanisms from human monocytes and CD14 transfectants. *Eur J Immunol.* 1995;25(2):604–10. doi: 10.1002/eji.1830250244
189. Zanoni I, Granucci F. Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3(32):1-6. doi: 10.3389/fcimb.2013.00032
190. Jersmann HPA. Time to abandon dogma: CD14 is expressed by non-myeloid lineage cells. *Immunol Cell Biol.* 2005;83(5):462–7. doi: 10.1111/j.1440-1711.2005.01370.x
191. Liu S, Khemlani LS, Shapiro RA, Johnson ML, Liu K, Geller DA, et al. Expression of CD14 by hepatocytes: upregulation by cytokines during endotoxemia. *Infect Immun.* 1998;66(11):5089–98.
192. Chenevier-Gobeaux C, Bardet V, Poupet H, Poyart C, Borderie D, Claessens Y-E. Presepsin (sCD14-ST) secretion and kinetics by peripheral blood mononuclear cells and monocytic THP-1 cell line. *Ann Biol Clin.* 2016;74(1):93–7. doi: 10.1684/abc.2015.1112
193. Zhang J, Hu Z-D, Song J, Shao J. Diagnostic Value of Presepsin for Sepsis. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(47):e2158. doi: 10.1097/MD.0000000000002158
194. Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, Shozushima T, Ishikura H, Murai A, et al. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. *J Infect Chemother.* 2012;18(6):891–7. doi: 10.1007/s10156-012-0435-2
195. Masson S, Caironi P, Spanuth E, Thomae R, Panigada M, Sangiorgi G, et al. Presepsin (soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial. *Crit Care.* 2014;18(1). 10.1186/cc13183
196. Liu B, Chen Y-X, Yin Q, Zhao Y-Z, Li C-S. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care.* 2013;17(5):2-12. doi: 10.1186/cc13070
197. Yang Y, Xie J, Guo F, Longhini F, Gao Z, Huang Y, et al. Combination of C-reactive protein, procalcitonin and sepsis-related organ failure score for the diagnosis of sepsis in critical patients. *Ann Intensive Care.* 2016;6(1):51. doi: 10.1186/s13613-016-0153-5
198. Carpio R, Zapata J, Spanuth E, Hess G. Utility of pre- sepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta* 2015;450:169-175.
199. Kotera A, Sagishima K, Tashiro T, Niimori D, Kamohara H, Kinoshita Y. A validation of presepsin levels in kidney dysfunction patients: four case reports. *J Intensive Care* 2014;2(1):63.

200. Nakamura Y, Ishikura H, Nishida T, Kawano Y, Yuge R, Ichiki R, Murai A. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in patients with or without acute kidney injury. *BMC Anesthesiol* 2014;14(1):88.
201. de Guadiana Romualdo DG, Torrella PE, Acebes SR, Oton MD, Sanchez RJ, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) as a biomarker of infection and sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta* 2017;464:6-11.
202. Moore LJ, Mckinley BA, Turner KL, Todd SR, Sucher JF, Valdivia A, et al. The Epidemiology of Sepsis in General Surgery Patients. *J Trauma*. 2011;70:672–80. doi: 10.1097/TA.0b013e31820e7803
203. ClinCalc: Evidence-based clinical decision support tools and calculators for medical professionals [Internet]. ClinCalc LLC - Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Calculator. [ažurirano 12.8.2019. pristupljeno 23.8.2019]. Dostupno na: <http://clincalc.com/icumortality/sofa.aspx>
204. Wichmann MW, Inthorn D, Andress H-J, Schildberg FW. Incidence and mortality of severe sepsis in surgical intensive care patients: the influence of patient gender on disease process and outcome. *Intensive Care Med*. 2000;26(2):167–72. doi: 10.1007/s001340050041
205. Mazuski JE, Tessier JM, May AK, Sawyer RG, Nadler EP, Rosengart MR, et al. The Surgical Infection Society Revised Guidelines on the Management of Intra-Abdominal Infection. *Surg Infect*. 2017;18(1):1–76. doi: 10.1089/sur.2016.261
206. Dellinger RP, Schorr CA, Levy MM. A users guide to the 2016 Surviving Sepsis Guidelines. *Intensive Care Medicine*. 2017;43(3):381-5. doi: 10.1007/s00134-017-4681-8
207. 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: 2016. *Intensive Care Med*. 2017;43(3). doi: 10.1007/s00134-017-4683-6
208. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care*. 2010;14(1):R15. doi: 10.1186/cc8872
209. The American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program® (ACS NSQIP) Participant Use Data File [Internet]. [pristupljeno 25.07.17]. Dostupno na: <https://www.facs.org/quality-programs/acs-nsqip/participant-use>
210. Mazuski JE, Sawyer RG, Nathens AB. The Surgical Infection Society Guidelines on Antimicrobial Therapy for Intra-Abdominal Infections: Evidence for the Recommendations. *Surgical Infection*. 2004;3(3):175-233; doi: 10.1089/109629602761624180
211. Alqarni A, Kantor E, Grall N, Tanaka S, Zappella N, Godement M, et al. Clinical characteristics and prognosis of bacteraemia during postoperative intra-abdominal infections. *Crit Care*. 2018;22(1):175. doi: 10.1186/s13054-018-2099-5
212. Mie Boillat-Blanco N, Mbarack Z, Samaka J, Mlaganile T, Mamin A, Genton B, et al. Prognostic value of quickSOFA as a predictor of 28-day mortality among febrile adult patients presenting to emergency departments in Dar es Salaam, Tanzania. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jun 14 [pristupljeno 20.06.2018];13(6): e0197982. Dostupno na: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0197982&type=printable>
213. Paugam-Burtz C, Dupont H, Marmuse JP, Chosidow D, Malek L, Desmots JM, et al. Daily organ-system failure for diagnosis of persistent intra-abdominal sepsis after postoperative peritonitis. *Intensive Care Med*. 2002;28(5):594–8. doi: 10.1007/s00134-002-1250-5
214. Tolonen M, Coccolini F, Ansaloni L, Sartelli M, Roberts DJ, McKee JL, et al. Getting the invite list right: a discussion of sepsis severity scoring systems in severe

- complicated intra-abdominal sepsis and randomized trial inclusion criteria. *World J Emerg Surg.* 2018;13:17. doi: 10.1186/s13017-018-0177-2
215. Lu H-X, Du J, Wen D-L, Sun J-H, Chen M-J, Zhang A-Q, et al. Development and validation of a novel predictive score for sepsis risk among trauma patients. *World J Emerg Surg.* 2019;14:11. doi: 10.1186/s13017-019-0231-8
 216. Wu J, Hu L, Zhang G, Wu F, He T. Accuracy of Presepsin in Sepsis Diagnosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Groeneveld ABJ, editor. *PLoS One* [Internet]. 2015 Jul 20 [pristupljeno 04.02.2018];10(7):e0133057. Dostupno na: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0133057>
 217. Yang HS, Hur M, Yi A, Kim H, Lee S, Kim S-N. Prognostic value of presepsin in adult patients with sepsis: Systematic review and meta-analysis. Lazzeri C, editor. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jan 24 [pristupljeno 06.03.2019];13(1):e0191486. Dostupno na: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0191486>
 218. Koakutsu T, Sato T, Aizawa T, Itoi E, Kushimoto S. Postoperative Changes in Presepsin Level and Values Predictive of Surgical Site Infection After Spinal Surgery. *Spine.* 2018;43(8):578–84. doi: 10.1097/BRS.0000000000002376
 219. Reith HB, Mittelkötter U, Wagner R, Thiede A. Procalcitonin (PCT) in patients with abdominal sepsis. *Intensive Care Med.* 2000;26(15):S165–9. doi: 10.1007/s001340051137
 220. Mokart D, Merlin M, Sannini A, Brun JP, Delpero JR, Houvenaeghel G, et al. Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery. *Br J Anaesth.* 2005;94(6):767–73. doi: 10.1093/bja/aei143
 221. Spoto S, Valeriani E, Caputo D, Cella E, Fogolari M, Pesce E, et al. The role of procalcitonin in the diagnosis of bacterial infection after major abdominal surgery: Advantage from daily measurement. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2018 Jan [pristupljeno 14.07.2018];97(3):e9496. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29504973>
 222. Giavarina D, Carta M. Determination of reference interval for presepsin, an early marker for sepsis. *Biochem medica.* 2015;25(1):64–8. doi: 10.11613/BM.2015.007
 223. Riedel S, Melendez JH, An AT, Rosenbaum JE, Zenilman JM. Procalcitonin as a Marker for the Detection of Bacteremia and Sepsis in the Emergency Department. *Am J Clin Pathol.* 2011;135(2):182–9. doi: 10.1309/AJCP1MFYINQLECV2
 224. Meyer ZC, Schreinemakers MJM, Mulder PGH, de Waal RAL, Ermens AAM, van der Laan L. The Role of C-Reactive Protein and the SOFA Score as Parameter for Clinical Decision Making in Surgical Patients during the Intensive Care Unit Course. Salluh JIF, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Feb 7 [pristupljeno 04.02.2018];8(2):e55964. dostupno na: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0055964>
 225. Kørner H, Nielsen HJ, Søreide JA, Nedrebø BS, Søreide K, Knapp JC. Diagnostic Accuracy of C-reactive Protein for Intraabdominal Infections After Colorectal Resections. *J Gastrointest Surg.* 2009;13(9):1599–606. doi: 10.1007/s11605-009-0928-1
 226. Santonocito C, De Loecker I, Donadello K, Moussa MD, Markowicz S, Gullo A, et al. C-reactive protein kinetics after major surgery. *Anesth Analg.* 2014;119(3):624–9. doi: 10.1213/ANE.0000000000000263
 227. Nakamura A, Wada H, Ikejiri M, Hatada T, Sakurai H, Matsushima Y, et al. Efficacy Of Procalcitonin In The Early Diagnosis Of Bacterial Infections In A Critical Care Unit. *Shock.* 2009;31(6):587–92. doi: 10.1097/SHK.0b013e31819716fa
 228. Nagata T, Yasuda Y, Ando M, Abe T, Katsuno T, Kato S, et al. Clinical Impact of Kidney Function on Presepsin Levels. 2015 Jun 1 [pristupljeno 07.03.2019]; 10(6):

e0129159. Dostupno

na:<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0129159&type=printable>

229. Nakamura Y, Murai A, Mizunuma M, Ohta D, Kawano Y, Matsumoto N, et al. Potential use of procalcitonin as biomarker for bacterial sepsis inpatients with or without acute kidney injury. *J Infect Chemother.* 2015;21(4). doi: 10.1016/j.jiac.2014.12.001
230. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Workgroup A. Open Access Acute renal failure-definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004;8:R204-12 doi: 10.1186/cc2872
231. Sartelli M, Catena F, Di Saverio S, Ansaloni L, Malangoni M, Moore EE, et al. Current concept of abdominal sepsis: WSES position paper. *World J Emerg Surg.* 2014;9(1):22. doi: 10.1186/1749-7922-9-22

8. POPIS KRATICA

ACCP – engl. *American College of Chest Physician*, Američko društvo pulmologa

ACS NSQIP – engl. *American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program*, Američko društvo kirurga: Nacionalni program za poboljšanje kvalitete u kirurgiji

ADAM17 – engl. *ADAM metalloproteinase domain 17*, ADAM metaloproteinazna domena 17

ALR – engl. *absent in melanoma - like receptor*, receptor poput receptora odsutnog u melanomu

APTV – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

ATS – engl. *American Thoracic Society*, Američko društvo za plućne bolesti

BSF – engl. *B cell stimulatory factor*, čimbenik stimulacije B stanica

CALC-1 – kalcitonin 1 gen

CD – engl. *cluster of differentiation*, skup površinskih biljega za razlikovanje leukocita

cGAS – engl. *cyclic GMP-AMP synthase*, sintaza cikličkog gvanozin-monofosfata s adenozin-monofosfatom

cGMP – engl. *cyclic guanosine monophosphate*, ciklički gvanozin-monofosfat

CKD-EPI - *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*, Istraživačka grupa za mjerenje i procjenu brzine glomerularne filtracije u bubrežnim bolestima

CLR – engl. *C-type lectin receptor*, C-klasa lektinskog receptora

CNTF – engl. *ciliac neurotrophic factor*, cilijarni neurotrofni čimbenik

COX – engl. *cyclooxygenase*, ciklooksigenaza

CRP – C-reaktivni protein

CSF – engl. *colony-stimulating factor*, čimbenik stimulacije kolonija

CTC – engl. *cardiotrophin-like cytokine*, citokin sličan kardiotrofinu

DAMP – engl. *danger-associated molecular patterns*, molekularni uzorak mehaničkog oštećenja

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

DOK – engl. *docking protein*, proteinski adapter

DPD – diklorfenil-diazonium-tetrafluoroborat

DUSP – engl. *mitogen-activated protein kinase phosphatase*, mitogenom aktivirana protein-kinazna fosfataza

eGFR – engl. *estimated glomerular filtration rate*, procijenjena brzina glomerularne filtracije

ERK – engl. *extracellular-signal-regulated kinase*, kinaza regulirana izvanstaničnim signalom

ESICM – *European Society of Intensive Care Medicine*, Europsko društvo za intenzivnu medicinu

FIO₂ – udio udahnutog kisika

GM-SCF – engl. *granulocyte–macrophage colony-stimulating factor*, čimbenik stimulacije granulocitno-makrofagnih kolonija

GCS – engl. *Glasgow coma score*, Glasgow sustav bodovanja kome

HDP – engl. *cationic host defense peptide*, kationski obrambeni peptid domaćina

HMGB – engl. *high mobility group box protein*, protein uključen u DNK ovisne procese

HTIB – trijodo-hidroksi benzojeva kiselina

IAI – intraabdominalne infekcije

ICAM – engl. *intracellular adhesion molecule*, unutarstanična adhezijska molekula

IDMS – engl. *isotope dilution mass spectrometry*, izotopna dilucijska masena spektrometrija

IL – interleukin

INR – međunarodni normalizirani omjer

IRA – engl. *innate response activator*, aktivator prirodnog odgovora

IRAK- engl. *interleukin-1 receptor-associated kinase*, kinaza udružena s receptorom interleukina 1

IRF – engl. *interferon response factor*, čimbenik odgovora inetrferona

JIL – Jedinica intenzivnog liječenja

KDIGO – *Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury*, Kliničke praktične smjernice za akutno bubrežno oštećenje

LBP – engl. *lipopolysaccharide binding protein*, lipopolisaharid-vezujući protein

LIF – engl. *leukemia inhibitory factor*, čimbenik inhibicije leukemije

LPS – lipopolisaharidi

LTA – lipoteikolična kiselina

MAL – engl. *MyD88- adaptor-like*, adapter poput MyD88

MAP – engl. *mean arterial pressur*, središnji arterijski tlak

MAPK – engl. *mitogen activated protein kinase*, mitogenom aktivirana protein kinaza

MCH – engl. *major hystocompatibility complex*, kompleks glavnog sustava tkivne snošljivosti

MCP – engl. *monocyte chemoattractant protein*, monocitni kemoatraktantni protein

MSK – engl. *mitogen- and stress-activated kinase*, mitogenom i stresom aktivirana kinaza

MyD – engl. *myeloid differentiation*, mijeloidna diferencijacija

NADPH – engl. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*, nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NF- κ B – engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, nuklearni transkripcijski čimbenik aktiviranih B stanica

NK – engl. *natural killer cell*, stanice prirođeni ubojice

NKF KDOQI TM – engl. *National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*, Nacionalan zaklada za bubrežne bolesti - Inicijativa za kvalitetu ishoda bubrežne bolest

NLR – engl. *nucleotide-binding oligomerization domain like receptor*, receptor poput nukleotid vezujuće oligomerizacijske domene

NO – dušikov monoksid

NOD – engl. *nucleotide-binding oligomerization domain*, nukleotid vezujuća oligomerizacijska domena

NOS – engl. *nitric-oxide synthase*, dušik-oksidi sintaza

PAMP – engl. *pathogen-associated molecular patterns*, molekularni uzorak oštećenja patogenom

PaO₂ – arterijski parcijalni tlak kisika

pCO₂ – parcijalni tlak ugljičnog dioksida;

PCT – prokalcitonin

PLAD – engl. *pre-ligand assembly domain*, domena preduklapanja liganda

PRR – engl. *pattern recognition receptor*, receptor prepoznavanja molekularnog uzorka

PSEP – presepsin

RIFLE – engl. *Risk, Injury, Failure, Loss of function and End-stage Kidney Disease*, Rizik, ozljeda, gubitak funkcije i završna faza bubrežne bolesti

RIG – engl. *retinoic acid-inducible gene*, gen koji se potiče retinoičnom kiselinom

RLR – engl. *retinoic acid-inducible gene-like receptors*, receptor poput gena koji se potiče retinoičnom kiselinom

RNK – ribonukleinska kiselina

RNS – engl. *reactive nitric species*, reaktivni dušikovi spojevi

ROS – engl. *reactive oxygen species*, reaktivni kisikovi spojevi

SCCM – *Society of Critical Care Medicine*, Društvo intenzivne medicine

sCD14-ST – *soluble CD14-subtype*, topiva CD14 podklasa

SIGIRR – engl. *single immunoglobulin IL-1R-related molecule*, molekula s jednom imunoglobulinskom domenom odgovorna za prijenos signala na IL-1R

SHP – engl. *small heterodimer partner*, mali heterodimerni partner

SIRS – engl. *system immune response syndrome*, sistemski imunološki upalni odgovor

SIS – engl. *Surgical Infection Society*, Društvo za kirurške infekcije

SOFA – engl. *Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment*, Slijedna (vezana za sepsu) procjena organskog zatajenja

SŽS – središnji živčani sustav

TACE – engl. *TNF α converting enzyme*, TNF α konvertirajući enzim

TANK – engl. *tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-family*, obitelj čimbenika povezanog s receptorom čimbenika nekroze tumora

TGF- β – engl. *transforming growth factor- β* , transformirajuću faktor rasta β

TH – engl. *type 1 T helper cell*, klasa I T pomoćničke stanice

TIMP – engl. *tissue inhibitors of metalloproteinases*, tkivni inhibitor metaloproteinaze

TIR – engl. *Toll/IL-1 receptor*, Toll/IL-1 receptor

TIRAP – engl. *TIR-associated protein*, adaptorna proteinska molekula udružen s TIR-om

TLR – engl. *toll-like receptor*, receptor prepoznavanja molekularnog uzorka

TRAM – engl. *TRIF-related adaptor molecule*, TRIF vezana adaptorna molekula

TRAF – engl. *TNF receptor associated factor*, čimbenik udružen s TNF receptorom

TSST – engl. *toxic shock syndrome toxin*, toksin sindroma toksičnog šoka

USP – engl. *ubiquitin-specific protease*, ubiquitin specifična proteaza

ŽIVOTOPIS

Gordana Fressl Juroš rođena je 1. rujna 1972. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu (Škola za medicinske sestre Mlinarska) pohađala je u Zagrebu. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 1993. godine i diplomirala 1998. godine. Diplomski rad „Buserelinski test u žena s hirzutizmom“ izradila je u Endokrinološkom laboratoriju Zavoda za internu medicinu Kliničkoga bolničkog centra Zagreb pod stručnim vodstvom dr.sc. Vesne Plavšić i prof.dr.sc. Mirka Koršića.

Nakon obavljenoga stručnog staža u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“, 2000. godine položila je državni ispit pri Ministarstvu zdravstva RH i od 2001. godine do danas kontinuirano radi u struci. Godine 2011. položila je specijalistički ispit iz područja medicinske biokemije i stekla naziv specijalist medicinske biokemije. Od 2002. do 2017. godine radila je u Kliničkome bolničkom centru Zagreb, lokacija Rebro, u Endokrinološkom laboratoriju Zavoda za internu medicinu te nastavno u Odjelu za hitnu laboratorijsku dijagnostiku i pretrage uz bolesnika. Od 2017. godine do danas radi kao voditelj Odjela za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku Dječje bolnice Srebrnjak.

Znanstveni poslijediplomski studij medicinske biokemije upisala je akademske godine 2001./2002. na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, a akademske godine 2009./2010. nastavila je poslijediplomski doktorski studij, grana medicinsko-biokemijske znanosti.

Članica je Hrvatske komore medicinskih biokemičara i Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu.

POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

Rad u časopisima baze podataka Web of Science Core Collection (WoS) ili Current Contents (CC)

G.Fressl Juroš, M.Tomičić Nikić, S.Davila Šarić, M.Perić, D.Rogić. Signa Vitae. Contribution of Presepsin, Procalcitonin and C-reactive protein to the SOFA Score in Early Sepsis Diagnosis in Emergency Abdominal Surgical Patients. Signa Vitae 2019;15(1):38-45.

I.Rako, A.Mlinaric, M.Dozelencic, G.Fressl Juros, D. Rogic. Effect of different pre-analytical conditions on plasma lactate concentration. Biochem medica 2018;28(2):20701.

I.Lapić, G. Fressl Juroš, I.Rako, D.Rogić. Changing the electronic request form proves to be an effective tool for optimizing laboratory test utilization in the emergency department. Int J Med Inform 2017;102:29–34.

A.Mlinaric, G.Fressl Juros, D.Rogic: Massive RBC fragmentation masks severe thrombocytopenia in both impedance and optical count measurements – case report of a neonate on ECMO support. Signa Vitae 2016; 12(1):128-130.

G.Fressl Juros, D.Nedic, D.Rogic: What does the haemolysed sample mean for reliability of laboratory test results?. Signa Vitae 2014;9:76-78.

Rad u časopisima baze podataka Medline/Pubmed:

Rogić D, Juroš GF, Petrik J, Vrančić AL. Advances and Pitfalls in Using Laboratory Biomarkers for the Diagnosis and Management of Sepsis. EJIFCC 2017;28:114–21

Aktivna sudjelovanja na kongresima:

Pozaić P., Fressl Juroš G, Jurina M.: Intermethod Comparison Of Allergen-Specific Immunoglobulin E measurement. Clin Chem Lab Med. 2018 Oct 25;56(11):eA203-eA359.

Juros FG, Nikic TM, Davila S, Peric M, Rogic D.: Can presepsin and procalcitonin be useful markers of intra-abdominal infections and sepsis in the emergency surgery patients; Clin Chem Lab Med 2017;55:S753

M.Horvat, G.Fressl Juros, A.Mlinaric, D.Rogic: Pouzdanost broja trombocita i leukocita u prisutnosti velikih trombocita, 4.LOKUS Simpozij HDMBLM i Abbott Laboratories: Laboratorij-Organizacija-Kvaliteta-Upravljanje-Sustav, Tuheljske Toplice, 2016

G.Fressl Juros, A.Ceri, I.Rako, D.Rogic: Ammonia level changes in icteric samples, 21. IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Paris, Francuska, 2015

A.Mlinaric, G.Fressl Juros, I.Rako, D.Rogic: Are platelet indices unfairly overlooked in cases os sudden decrease in platelet count in neonates admitted to neonatal intensive care unit?, 8. Kongres HDMBLM Rijeka, Hrvatska, 2015 – odabran za oralnu prezentaciju

Ceri A, Fressl Juros G, Rako I, Rogic D: Impact of plasma bilirubin on hemolysis index value, 3rd EFLM-BD European Conference on Preanalytical Phase, Porto, Portugal, 2015.

G.Fressl Juroš, D. Rogić, I. Rako, M. Fuček: Povećanje učinkovitosti hitne laboratorijske usluge ukidanjem refleksnog pregleda mokraćnog sedimenta, 2. LOKUS - Simpozij HDMBLM i Abbott Laboratories: Laboratorij-Organizacija-Kvaliteta-Upravljanje-Sustav, Osijek, 2014.

I.Rako, G.Fressl Juroš, D.Rogić: Smanjenje laboratorijskih troškova isključivanjem pretrage CK iz narudžbe sTroponinom T kod sumnje na AKS2. LOKUS - Simpozij HDMBLM i Abbott Laboratories: Laboratorij-Organizacija-Kvaliteta-Upravljanje-Sustav, Osijek, 2014.

I.Rako, G.Fressl Juros, D.Rogic: Selenium and Vitamin D in colorectal cancer patients – any connection with kras gene mutations? IFCC WorldLab Istanbul 2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorski rad

Doprinos presepsina, prokalcitonina i C-reaktivnog proteina SOFA sustavu bodovanja u ranom postavljanju dijagnoze sepse

Gordana Fressl Juroš

Uvod: Sepsa, klinički sindrom koji se javlja kao posljedica neuravnoteženog odgovora organizma na infekciju, vodeći je uzrok pobola i smrtnosti u cijelome svijetu bez obzira na stupanj razvijenosti. Cilj rada bio je istražiti mogućnost poboljšanja dijagnostičke točnosti ranog otkrivanja sepse u hitnih abdominalnih kirurških bolesnika dodavanjem triju biokemijskih biljega upale/infekcije početnom SOFA sustavu bodovanja (*i*SOFA): presepsina (PSEP) kao predstavnika nove generacije, te prokalcitonina (PCT) i C-reaktivnog proteina (CRP) kao predstavnika rutinskih biljega.

Materijali i metode: Ispitivanu populaciju činila su 72 hitna bolesnika s radnom dijagnozom akutnog abdomena, podvrgnuta hitnomu kirurškom zahvatu. Istraživanje je ispitalo dijagnostičku točnost pojedinih biljega u razlikovanju dviju skupina ispitanika: s postavljenom dijagnozom sepse i bez sepse. Ispitivana je i prediktivna vrijednost dvaju modela u ranom postavljanju dijagnoze sepse: prvi, koji uključuje samo *i*SOFA i drugi, koji predstavlja kombinaciju triju navedenih biljega i *i*SOFA.

Rezultati: *i*SOFA je pokazao najveću dijagnostičku točnost u razlikovanju septičnih od neseptičnih bolesnika s AUC=0,967. Slijede PSEP s AUC=0,738 te PCT s AUC=0,694. CRP s AUC=0,606 se pokazao kao biljeg s najmanjom dijagnostičkom točnošću razlikovanja septični od neseptičnih bolesnika. Logistička regresijska analiza obaju modela pokazala je da se upotrebom prvog modela koji uključuje samo *i*SOFA, u bolesnika s povećanjem vrijednosti ovog parametra, vjerojatnost za sepsu povećava dvostruko. Drugi model, koji osim *i*SOFA uključuje i biokemijske biljege PSEP, PCT i CRP, pokazuje da se uz povećanje vrijednosti *i*SOFA i povećanje koncentracija navedenih biokemijskih biljega, ova vjerojatnost povećava tri puta.

Zaključak: Iako je SOFA sustav bodovanja prihvaćen kao temelj postavljanja dijagnoze sepse pokazalo se da su PSEP i PCT, dobri neovisni biljezi sa statistički značajno većim koncentracijama u septičnih nego u neseptičnih bolesnika. CRP, kao neovisni biljeg, se nije pokazao statistički značajno različit između septičnih i neseptičnih bolesnika. Ispitivanje dijagnostičke točnosti biokemijskih biljega PSEP, PCT i CRP kao neovisnih parametara je pokazalo da PSEP ima veću dijagnostičku specifičnost (33%) od PCT-a (17%) i CRP-a (14%). Također se pokazalo da biljezi PSEP i PCT ne doprinose statistički značajno ispitivanom modelu s *i*SOFA. Međutim, CRP je jedini biljeg koji ima statistički značajan doprinos u ispitivanom modelu s *i*SOFA. Buduća istraživanja trebala bi ispitati dijagnostičku vrijednost dinamičkih promjena ovih triju biokemijskih biljega u predviđanju i ranom postavljanju dijagnoze sepse.

Ključne riječi: sepsa, SOFA, presepsin, prokalcitonin, akutni abdomen.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu

Rad sadrži: 88 stranica, 29 slika; 10 tablica i 231 literaturni navod. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentori: izv.prof.dr.sc. Dunja Rogić, izvanredna profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

prof.dr.sc. Mladen Perić, redoviti profesor, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Ocjenjivači: dr. sc. Nada Vrkić, viši znanstveni suradnik, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb

prof.dr.sc. József Petrik, redoviti profesor u trajnom zvanju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

izv.prof.dr.sc. Ksenija Fumić, izvanredna profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Datum prihvaćanja rada: **18. rujna 2019. godine**

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral thesis

CONTRIBUTION OF PRESEPSIN, PROCALCITONIN AND C-REACTIVE PROTEIN TO THE SOFA SCORE IN EARLY SEPSIS DIAGNOSIS

Gordana Fressl Juroš

Background: Sepsis, a clinical syndrome occurring as consequence of dysregulated host response to infection, is a leading cause of morbidity and mortality worldwide, regardless low or high-income country. This study examined whether the addition of biomarkers presepsin (PSEP), procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) to the initial SOFA (*i*SOFA) score can improve diagnostic accuracy of early sepsis diagnosis in emergency abdominal surgery patients.

Materials and Methods: Seventy-two study subjects had the diagnosis of acute abdomen due to gastrointestinal disturbances. The study evaluated diagnostic accuracy and predictive value of two models (*i*SOFA only and *i*SOFA combined with three biomarkers) for sepsis diagnosis.

Results: *i*SOFA has shown highest diagnostic accuracy in distinguishing septic from non-septic patients with AUC=0,738. Following are PSEP with AUC = 0.738 and PCT with AUC = 0.694. Logistic regression analysis of both models has shown that by using the first model including only *i*SOFA, the patients with increasing *i*SOFA have the probability of sepsis two times higher than the patients with low *i*SOFA value. The second model, which includes biomarkers PSEP, PCT, and CRP in addition to *i*SOFA, shows that with increasing *i*SOFA values and increasing concentrations of these biomarkers, this probability increases three times.

Conclusion: Although the SOFA scoring system has been accepted as key parameter in sepsis diagnosis, it has been shown that PSEP and PCT are good independent markers with statistically significant higher concentrations in septic than in non-septic patients. CRP, as an independent marker, has not shown statistically significantly different between septic and non-septic patients. Examination of diagnostic accuracy of biomarkers PSEP, PCT and CRP as independent parameters has shown that PSEP has a higher diagnostic specificity (33%) than PCT (17%) and CRP-a (14%). It has also been shown that PSEP and PCT do not contribute statistically significantly to the examined model with *i*SOFA. CRP is the only one with a statistically significant contribution to the model with *i*SOFA. Future investigations should examine the diagnostic value of dynamic changes of the three biomarkers in the prognosis and the early diagnosis of sepsis.

Keywords: Sepsis, SOFA, presepsin, procalcitonin, abdominal surgery

This thesis is deposited in the Central Library of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.

Thesis includes: 88 pages, 29 figures, 10 tables and 231 references. The original is written in Croatian language.

Mentors: Dunja Rogić, PhD, Associate Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry
University of Zagreb.

Mladen Perić, Full Professor, School of Medicine University of Zagreb

Reviewers: Nada Vrkić, PhD, Senior Research Associate, Sestre Milosrdnice University Hospital
Centre, Zagreb

József Petrik, Full Professor with Tenure, Faculty of Pharmacy and Biochemistry
University of Zagreb.

prof.dr.sc. Ksenija Fumić, Associate Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry
University of Zagreb.

Thesis accepted: **September 18th, 2019**